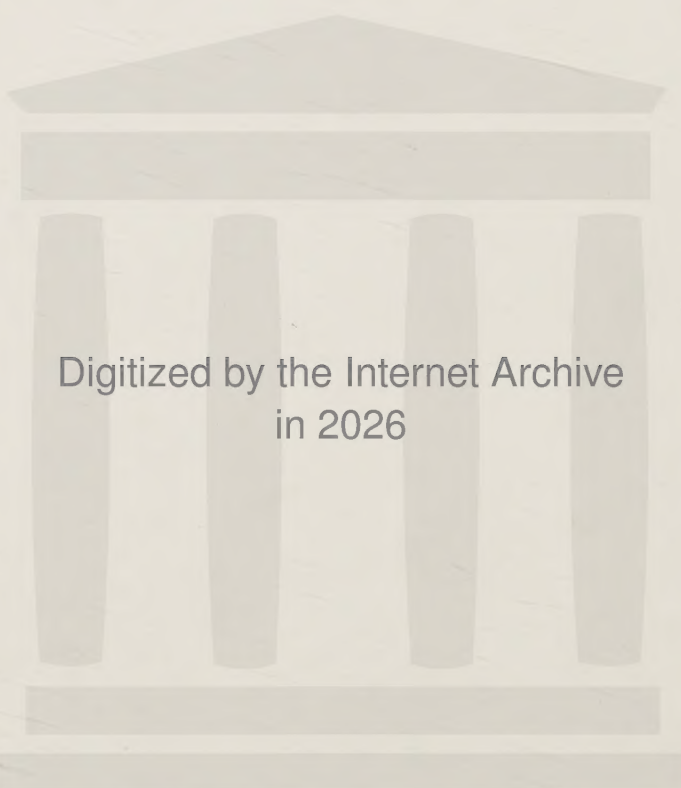


Tierexperimentelle Studien über die Rolle von Adenosin
als Mediator der Dipyridamol-induzierten
Koronardilatation

Ingrid L. Reyes

*Das
Hindern
19015*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554811_0009

Aus dem Physiologischen Institut der Universität München

Vorstände: Prof. Dr.med. G. ten Bruggencate

Prof. Dr.med. E. Gerlach

Prof. Dr.med. K. Thureau

TIEREXPERIMENTELLE STUDIEN ÜBER DIE ROLLE VON ADENOSIN ALS
MEDIATOR DER DIPYRIDAMOL-INDUZIERTEN KORONARDILATATION

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Ingrid L. Reyes
aus
Mexiko-Stadt/Mexiko

1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. E. Gerlach

Mitberichterstatter: _____

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 9.8.1985

Herrn Prof. Dr. E. Gerlach danke ich für die Arbeitsmöglichkeit in seinem Institut und für die Unterstützung bei der Abfassung dieser Arbeit.

Herrn Dr. B. Becker möchte ich für die Überlassung des Themas, für das Interesse, das er der Zusammenstellung und der Durchführung der Untersuchungen widmete, für die wertvollen Anregungen und für die vielen kritischen Diskussionen sehr herzlich danken.

Weiterhin danke ich herzlich Herrn W. Schrödl und Fräulein D. Kiesel für die technische Assistenz.

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
E I N L E I T U N G	1
M E T H O D I K	9
I. MATERIALIEN	9
II. TIEREXPERIMENTELLER TEIL	9
a) Präparation der Herzen	9
b) Erfassung von hämodynamischen Parametern	10
c) Perfusionsapparatur	12
d) Perfusionsbedingungen	13
e) Versuchsbedingungen zur Untersuchung der Dipyridamol-Wirkung	14
1. Spontan schlagende Meerschweinchenherzen	14
2. Elektrisch stimulierte Meerschweinchenherzen	14
3. Theophyllin-vorbehandelte Meerschweinchenherzen	15
4. Intrakoronare Infusion von Adenosindesaminase	15
5. Hypoxisch perfundierte Meerschweinchenherzen	16
6. Spontan schlagende Rattenherzen	17
III. ANALYTISCHER TEIL	17
a) Konzentrationsbestimmungen von Adenosin und Inosin	17
1. Probengewinnung	17
2. Probenverarbeitung	17
3. Probenaufbewahrung	18
4. Analyse durch HPLC	18
b) Konzentrationsbestimmung von Laktat im koronaren Effluat	19
c) Berechnung von Freisetzungsraten	20
d) Statistische Methoden	20

ERGEBNISSE

21

I. Quantifizierung der Adenosinabgabe in Gegenwart von Dipyridamol

21

1. Spontan schlagende Meerschweinchenherzen

21

2. Elektrisch stimulierte Meerschweinchenherzen

23

3. Theophyllin-vorbehandelte Meerschweinchenherzen

25

II. Quantifizierung der Dipyridamol-induzierten Koronardilatation

29

III. Laktat-Freisetzungsraten in Gegenwart von Dipyridamol

32

IV. Einfluß von Adenosindesaminase auf die Dipyridamol- bzw. Papaverin-induzierte Koronardilatation und Adenosin-Abgabe

34

V. Wirkung von Dipyridamol auf hypoxisch perfundierte Meerschweinchenherzen

38

VI. Wirkung von Dipyridamol auf Rattenherzen

40

DISKUSSION

42

ZUSAMMENFASSUNG

53

LITERATURVERZEICHNIS

54

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ADA	Adenosindesaminase
AMP	Adenosin-5'-monophosphat
ADP	Adenosin-5'-diphosphat
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
AV-Block	Atrio-ventrikuläre Überleitungsstörung
cAMP	cyclisches Adenosin-3',5'-monophosphat
Dip	Dipyridamol
$dp/dt_{\max}$	Maximale Änderungsgeschwindigkeit des Druckes
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie
LDH	Laktat-Dehydrogenase
LVP	Linksventrikulärer Druck
NAD ⁺	Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid
SAH	S-Adenosylhomocystein
SEM	Mittlere Streuung des Mittelwertes
SD	Standardabweichung

E I N L E I T U N G

Die Substanz Dipyridamol [2,6-Bis (diäthanolamino)-4,8-dipiperidinopyrimido(5,4d)-pyrimidin] führt zu einer deutlichen Zunahme der Herzkranzgefäßdurchblutung bei vielen Spezies in vivo, wie erstmals von Kadatz sowie Bretschneider et al. 1959 berichtet wurde. Anfang der 60er Jahre wurde Dipyridamol als Koronardilatator zur Behandlung der Angina pectoris eingeführt (Charlier 1961; Winbury 1964).

Die koronardilatierende Wirkung wurde bereits früh von Gerlach und Deuticke (1963) und später von Kübler, Spiekermann und Brétschneider (1970) mit im Herzen vermehrt gebildetem Adenosin in einen quantitativen Zusammenhang gebracht. Einerseits wies dieser Metabolit des Adenin-Nukleotidstoffwechsels eine starke koronardilatierende Wirkung bei Herzen verschiedener Spezies auf (Drury et al. 1929; Berne 1963; Afonso 1970; Hopkins 1973; Büniger et al. 1975), und andererseits waren die Gewebespiegel von Adenosin in ischämischen Herzen in Gegenwart von Dipyridamol erhöht (Gerlach und Deuticke 1963; Kübler et al. 1970; Degenring et al. 1976). In weiterer Analogie zu Adenosin kann Dipyridamol auch zu Störungen der atrioventrikulären Überleitung am Herzen führen (Bretschneider et al. 1959; Stafford 1966; Belardinelli et al. 1982).

Für eine Adenosin-vermittelte Wirkung von Dipyridamol spricht weiterhin die gleichartige Hemmbarkeit der koronaren Effekte von Adenosin und Dipyridamol durch Theophyllin

(Afonso 1970; Büniger et al. 1975). Die zusätzlichen Beobachtungen, daß Dipyridamol einerseits die Wirkung von exogen in das Koronarsystem appliziertem Adenosin auf die Koronargefäße potenziert (Bretschneider et al. 1959; Kolassa et al. 1970; Degenring et al. 1976) und andererseits die Aufnahme von Adenosin in das Myokard mehrerer Tierspezies hemmt (Kübler et al. 1970; Kolassa et al. 1970; Hopkins 1971; Liu et al. 1971; Mustafa 1979) stützten und erweiterten das Konzept einer Adenosin-vermittelten Wirkung von Dipyridamol im Herzen. Dabei scheint eine kardiale Herkunft des Adenosins gesichert zu sein; denn Dipyridamol dilatiert auch die Koronargefäße von isolierten, salin perfundierten Herzen von Meerschweinchen, Hunden und Kaninchen (West 1962; Gerlach und Deuticke 1963; Fam et al. 1964; Liu et al. 1971). Eine durch Dipyridamol gehemmte Wiederaufnahme von endogen gebildetem Adenosin bietet sich daher als kausaler Wirkungsmechanismus an.

Im Einklang mit dieser Theorie steht die Tatsache, daß Dipyridamol an Rattenherzen die Adenosinaufnahme nicht hemmt und ebenfalls bei dieser Spezies ohne Effekt auf die Koronargefäße isolierter Herzen ist (Stafford 1966; Kolassa et al. 1971; Hopkins 1971). Von besonderer Bedeutung erscheint der Befund von Henrichs et al. (1982), wonach die gleichzeitige intrakoronare Applikation von Adenosindesaminase die Dipyridamol-induzierte Koronardilatation am Hundeherzen aufzuheben vermag.

Bislang besteht jedoch keine Übereinstimmung in der Literatur bezüglich des Adenosinstoffwechsels im Herzen in

Gegenwart von Dipyridamol. In einer Arbeit von Degenring et al. (1976) wird von einer Abnahme der koronarvenösen Adenosinabgabe bei mit Dipyridamol behandelten Meerschweinchenherzen berichtet, während nach neueren Untersuchungen von Becker, Bardenheuer und Gerlach (1983) Adenosin im koronaren Effluat tatsächlich vermehrt ist. Am Hundeherzen in situ scheint Dipyridamol die koronarvenöse Adenosinkonzentration nicht zu erhöhen, wohl aber die Adenosinkonzentration im perikardialen Superfusat, welches mit dem interstitiellen Raum des Myokards in Verbindung steht (Knabb et al. 1984).

Um die möglichen Angriffspunkte von Dipyridamol am Adenosinstoffwechsel des Herzens zu verdeutlichen, werden die relevanten myokardialen Stoffwechselwege und die Transportschritte von Adenosin zwischen Cytosol und Koronargefäßlumen in Abb. 1 schematisch dargestellt.

Wie von verschiedenen Arbeitsgruppen gezeigt wurde (Berne 1961; Gerlach et al. 1963; Berne 1963; Richmann und Wynborny 1964; Imai et al. 1964; Deuticke und Gerlach 1966; Berne et al. 1966), entsteht Adenosin beim Abbau der kardialen Adenin-Nukleotide. Dephosphorylierung von ATP führt zunächst zu ADP und AMP. Der über AMP hinausgehende Abbau zu Adenosin erfolgt mittels der 5'-Nukleotidase. Unter bestimmten Bedingungen kann Adenosin zusätzlich auch aus S-Adenosyl-homocystein entstehen (Schütz, Schrader und Gerlach 1981).

Intrazellulär kann Adenosin durch die im Cytosol vorliegende Adenosindesaminase zu Inosin desaminiert werden. Der weiter über Inosin hinausgehende Abbau zu Hypoxanthin wird durch die Nukleosid-Phosphorylase katalysiert. Dieses Enzym findet sich aber überwiegend in den Endothelzellen der Koronargefäße (Rubio et al. 1973; Nees et al. 1982; Bowditch et al. 1985; vgl. auch Manfredi und Holmes 1985). Als Endprodukt des Purinmetabolismus im Herzen wird Harnsäure gebildet; das hierfür verantwortliche Enzym Xanthindehydrogenase bzw. Xanthinoxidase scheint ausschließlich im Koronarendothel vorhanden zu sein (Jarasch et al. 1981; Böck et al. 1984). Adenosin kann aber auch unter Vermittlung der Adenosinkinase zu AMP phosphoryliert werden, vor allem im Endothel (Nees et al. 1983).

Adenosin wird von den Myokardzellen in den interstitiellen Raum abgegeben und zum größten Teil wieder in die Myokardzelle oder in das Koronarendothel aufgenommen. Eine direkte Passage von Adenosin durch das Endothel der Kapillaren scheint bei Konzentrationen $< 10^{-6} \text{M}$ nach neueren Befunden von Nees et al. (1985) nicht möglich. Vermutlich gelangt Adenosin myozytären Ursprungs jedoch durch interendotheliale Spalten in den venösen Abschnitt des Koronargefäßbettes. Auch das Koronarendothel gibt kontinuierlich kleine Mengen von Adenosin in das Lumen ab, obwohl - wie heute bekannt ist - intravaskulär angebotenes Adenosin vom Koronarendothel rasch verstoffwechselt wird (Nees et al. 1983). Die Aufnahme in das Endothel wird in Gegenwart von

Dipyridamol abgeschwächt (Nees et al. 1983), ebenso wie die gesamte Adenosin-Aufnahme in das Myokard (Kübler et al. 1970; Kolassa et al. 1970; Hopkins 1971; Liu et al. 1971). Wie in Abb. 1 angedeutet, scheint Dipyridamol daher die kardiomyozytäre und die endotheliale Adenosinwiederaufnahme zu hemmen, den Adenosinabgabeprozess dagegen kaum oder gar nicht (Mustafa 1979).

Bei hohen Konzentrationen von Dipyridamol können, zusätzlich zur Hemmung des Adenosin-Transportes, weitere Mechanismen an der gesteigerten Adenosinbildung im Myokard beteiligt sein. So fanden Gerlach et al. (1966) eine kompetitive Hemmung der Adenosindesaminase-Aktivität durch Dipyridamol. Diese Enzym-Hemmung ist jedoch nur bei Dipyridamolkonzentrationen $> 10^{-5} \text{M}$ in vitro zu beobachten. Ebenfalls anhand von in vitro-Messungen fanden de Jong et al. (1979) an Rattenherzen eine Inhibition der Adenosinkinase-Aktivität durch Dipyridamol in hoher Konzentration (10^{-5}M). Das entsprechende Enzym aus Herzen von Kaninchen, Hund und Meerschweinchen scheint dagegen nicht gehemmt zu werden (Hopkins et al. 1971; Olsson et al. 1972; Alma et al. 1971).

Außer einer möglichen Beeinflussung von Enzymaktivitäten und Adenosin-Transportprozessen muß noch ein indirekter Mechanismus berücksichtigt werden, durch den Dipyridamol den kardialen Adenosinstoffwechsel modifizieren könnte. Unter physiologischen Bedingungen ist die Koronardurchblutung den metabolischen Bedürfnissen des Myokards angepaßt. Dabei sorgt auf lokaler Ebene die metabolische

Kontrolle der Durchblutung für eine adäquate Perfusion aller myokardialen Bezirke. Die Dipyridamol-induzierte Dilatation, vornehmlich der kleinen Widerstandsgefäße (Fam und Mc Gregor 1968), erfolgt generalisiert über das ganze Herz, wodurch es zu einer Umverteilung der Durchblutung kommen kann (Beller 1985). Insbesondere kann der Blutfluß zu Arealen hinter einer Gefäßstenose verringert werden, da Blut vermehrt durch nicht stenosierte, erweiterte Gefäße strömt (Marschall et al. 1973; Feldman et al. 1981; Viritanen et al. 1983; Beller et al. 1983, 1985). Auf der Grundlage dieses sogenannten "Coronary Steal"-Phänomens wurde sogar ein "Dipyridamol-Test" zur Provokation von Angina pectoris-Anfällen bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit entwickelt (Hilger et al. 1976; Previtali et al. 1982). Interessanterweise unterbricht Theophyllin die Attacken sofort. Tritt nun unter der Einwirkung von Dipyridamol eine inhomogene Verteilung des Koronarflusses oder gar ein "Coronary Steal" ein, so wäre zu erwarten, daß Dipyridamol eine zusätzliche Steigerung der Adenosin-Freisetzung aus dem Herzen bewirkt, weil Adenosin - im Sinne der metabolischen Kontrolle der Flußregulation - in minderperfundierten Arealen verstärkt gebildet wird (vgl. Berne 1963).

Angesichts von Unklarheiten über den Wirkungsmechanismus von Dipyridamol am Herzen wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit folgende Untersuchungen durchgeführt:

1) Die Adenosinabgabe aus isolierten perfundierten Meer-schweinchenherzen wurde in Abhängigkeit von der Dipyridamol-Konzentration bestimmt und mit der koronardilatierenden Wirkung unter normoxischen sowie unter hypoxischen Perfu-sionsbedingungen verglichen.

2) Messungen der Adenosinabgabe und der koronardilatie-renden Wirkung von Dipyridamol erfolgten am Meerschwein-chenherzen ebenfalls in Gegenwart von Theophyllin bzw. Adenosindesaminase.

3) Vergleichende Untersuchungen wurden mit dem Vasodilata-tor Papaverin an Meerschweinchenherzen und mit Dipyridamol an Rattenherzen vorgenommen.

4) Durch Messungen der Adenosin- und Laktatabgabe unter verschiedenen Bedingungen wurde der Frage nachgegangen, ob die Ausbildung von Perfusionsinhomogenitäten des Myokards infolge von Herzrhythmusstörungen (AV-Block) bzw. "Coronary Steal" zu der Dipyridamol-induzierten Steigerung der Adenosinabgabe beiträgt.

M E T H O D I K

I) MATERIALIEN

Alle verwendeten Chemikalien und Wirksubstanzen waren von höchstmöglicher Reinheit. Dipyridamol wurde von der Firma Dr. K. Thomae (Biberach) bezogen, Insulin aus Rinder-Pankreas von SIGMA Chemie (München). Adenosindesaminase (EC 3.5.4.4) aus Kälberdarmmukosa, Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (NAD^+) und Laktat-dehydrogenase (LDH, EC 1.1.1.27) aus Kaninchenmuskel stammten von Boehringer GmbH Mannheim. Papaverin, Theophyllin, Glycin, Hydrazin sowie alle anderen Substanzen waren von der Firma E. Merck (Darmstadt). Der Dialyseschlauch wurde von der Fa. Union Carbide (Chicago, Illinois, U.S.A.) bezogen.

II. TIEREXPERIMENTELLER TEIL

a) Präparation der Herzen

Meerschweinchen (männlich, 260-500 g Körpergewicht) bzw. Ratten (Sprague-Dawley, männlich; 200-300 g Körpergewicht) wurden durch zervikale Dislokation oder Ätherinhalation betäubt und nach Anschneiden der Aa. carotides teilweise entblutet. Der Thorax wurde rasch eröffnet und das freigelegte Herz mit vorgekühlter 0,9%iger NaCl-Lösung zum Stillstand gebracht. Nach Entfernung der Lungen und des

Perikards wurde die Aorta kanüliert und das Herz retrograd bei einem Druck von 80 cm Wassersäule nicht-rezirkulierend perfundiert (Langendorff, 1895). Zur Entfernung des Herzens aus dem Thorax wurde dann die Aorta distal von der Aortankanüle abgeschnitten und die Pulmonalarterie, die obere und untere Hohlvene sowie die Pulmonalvenen weit distal durchtrennt. Zur Weiterperfusion wurde das Herz an die unten beschriebene Perfusionsapparatur angeschlossen. Um sicher zu sein, daß das isolierte Herz nur isovolumetrische Kontraktionen durchführen konnte und keine äußere Arbeit verrichtete, wurde die Mitralklappe durch einen Scherenschnitt zerstört. In einem letzten Schritt erfolgte nach Ligatur aller Venen am rechten Vorhof das Einbinden einer Kanüle in die Pulmonalarterie.

b) Erfassung von hämodynamischen Parametern

Mittels eines Latexballons, der in den linken Ventrikel eingeführt wurde und durch eine flüssigkeitsgefüllte Kanüle mit einem Druckaufnehmer (Statham P 23Db) und nachfolgend einem Elektromanometer (Nr. 7556) und Differentiator (Nr. 7451) (Hugo-Sachs-Elektronik) verbunden war, konnten der linksventrikuläre Druck (LVP), die Änderungsgeschwindigkeit des Druckes (dp/dt) sowie die spontane Herzfrequenz kontinuierlich erfaßt werden. Der koronarvenöse Ausstrom über die Pulmonalarterie wurde mit einer elektromagnetischen Flußsonde (Gould-Statham, Innendurchmesser 3 mm) und einem Flußmeßgerät (Gould SP 2202) fortlaufend gemessen. Die

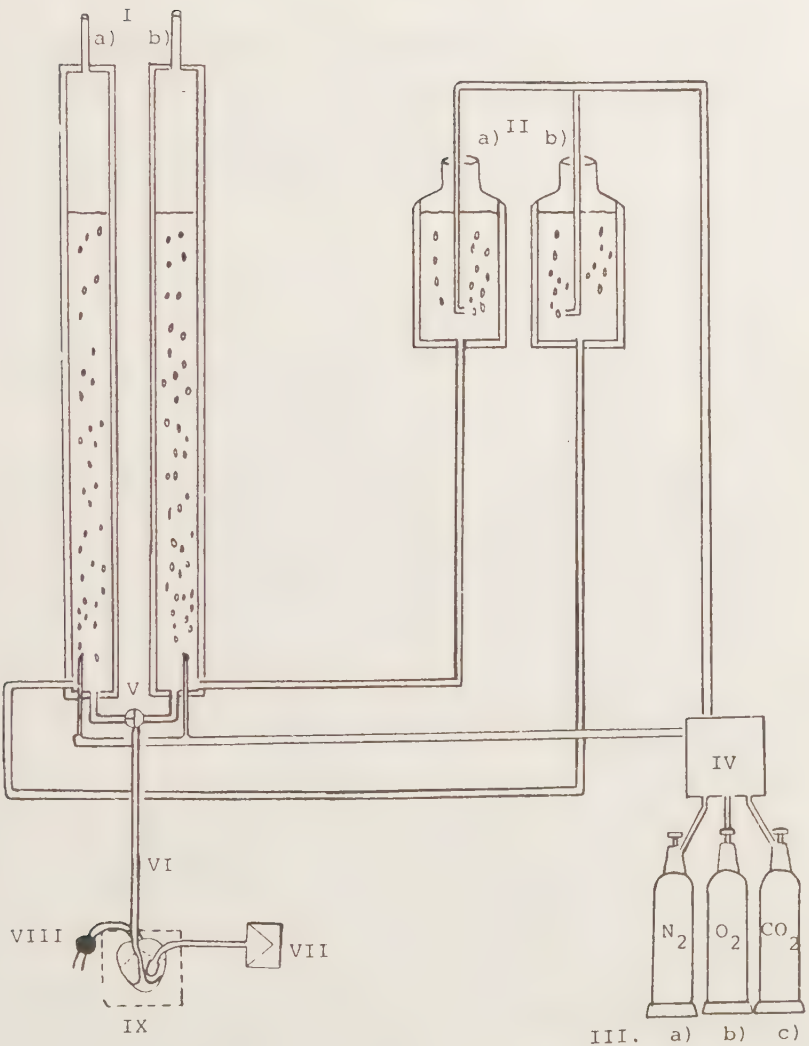


Abb. 2

Schematische Darstellung der Apparatur zur Perfusion isolierter Herzen.

- | | | | |
|------|-----------------|-------|--------------------|
| I. | Zylinderrohre | VI. | Aortenkanüle |
| II. | Reservoirgefäße | VII. | Druckaufnehmer |
| III. | Gasflaschen | VIII. | Flußmeßkopf an der |
| IV. | Mischpumpe | | A. pulmonalis |
| V. | Dreivegehahn | IX. | Feuchte Kammer |

Registrierung der hämodynamischen Parameter erfolgte mit einem Beckman 4-Kanalschreiber (Typ 611). In einigen Versuchen wurden die Herzen zur Konstanthaltung der Frequenz elektrisch stimuliert (Stimulator T, Hugo-Sachs-Elektronik).

c) Perfusionsapparatur

Einzelheiten der verwendeten Perfusionsapparatur sind in Abb. 2 schematisch dargestellt.

Das Perfusat befand sich in zwei Reservoirgefäßen (II a und b). Diese waren in der Höhe verstellbar und mit der Höhe des Perfusatspiegels konnte der Perfusionsdruck in den jeweiligen Zylinderrohren (I b und a) in einfacher Weise konstant gehalten werden. Diese Rohre ermöglichten eine erneute Begasung und Anwärmung des Perfusats unmittelbar vor dem Herzen.

Die Zylinderrohre waren mit einem Dreiwegehahn verbunden. Durch Verstellen des Hahns konnte wahlweise der Inhalt von Zylinderrohr a oder b in die Aortenkanüle des Herzens geleitet werden.

Die Reservoirgefäße, die feuchte Kammer um das Herz und die Zylinderrohre waren auf 37°C mit einem Pumpthermostaten (NB 5, Colora-Meßtechnik) erwärmt.

Wie in Abb. 2 weiter gezeigt ist, wurde das Perfusat begast, und zwar normalerweise mit einer Mischung von 5,6% CO₂ und 94,4 % O₂. Bei Versuchen unter Hypoxie bestand das

Gasgemisch aus 30% O₂; 64,4% N₂ und 5,6% CO₂. Die Einstellung der gewünschten Gaskonzentration erfolgte mittels Gasmischpumpen (IV) der Firma Wösthoff, Bochum (Typen 1SA 27/3, 1SA 18/3, 1SA 27/3-F).

d) Perfusionsbedingungen

Die Perfusion der Herzen erfolgte bei einem konstanten Druck von 80 cm Wassersäule (Meerschweinchen) bzw. 110 cm Wassersäule (Ratten). Als salines Perfusionsmedium diente eine modifizierte Krebs-Henseleit-Lösung (Bünger et al. 1975) folgender Zusammensetzung: NaCl 127mM; KCl 4,7mM; NaHCO₃ 24,9mM; CaCl₂ 1,25mM; MgSO₄ 0,5mM; KH₂PO₄ 1,2mM; Glucose 5,5mM; Pyruvat 0,3mM; Insulin 5 U/l. Äquilibriert bei 37°C mit 5,6% CO₂ beträgt der pH der Lösung 7,4.

Grundsätzlich wurden die Untersuchungen erst etwa 30 min nach erfolgter Herzpräparation begonnen. Nach dieser Äquilibrierungsperiode waren die hämodynamischen Parameter LVP, $dP/dt_{\max}$, Frequenz und Koronarfluß stabil. Pharmaka, deren Einfluß auf Hämodynamik und Stoffwechsel des Herzens untersucht werden sollten, wurden im Perfusat aufgelöst und mit dem Perfusat fortlaufend appliziert. Adenosindesaminase (dialysiert gegen isotone Kochsalzlösung) wurde unmittelbar in den Perfusatstrom in Höhe der Aortenkanüle infundiert (Precidor Pumpe AG, Basel).

Alle interessierenden hämodynamischen und metabolischen Wirkungen der Substanzen wurden grundsätzlich erst nach

Erreichen eines Gleichgewichtszustandes quantitativ ausgewertet, d.h. jeweils nach ca. 8-10 min.

e) Versuchsbedingungen zur Untersuchung der
Dipyridamol-Wirkung

1. Spontan schlagende Meerschweinchenherzen

Zunächst wurden Untersuchungen an spontan schlagenden, isolierten Meerschweinchenherzen durchgeführt. Nach Erreichen eines konstanten kardialen Funktionszustandes (etwa 30 min nach Beginn der in vitro-Perfusion) wurde Dipyridamol in verschiedenen Konzentrationen ($10^{-7}M$; $5 \times 10^{-7}M$; $10^{-6}M$; $2 \times 10^{-6}M$; $5 \times 10^{-6}M$; $10^{-5}M$) mit dem Perfusat appliziert. Pro Herz wurde nur jeweils eine Konzentration von Dipyridamol untersucht. Etwa 8 bis 10 min nach Applikationsbeginn wurden die hämodynamischen Wirkungen erfaßt und Proben des Koronareffluats zur Bestimmung von Adenosin und Inosin gesammelt.

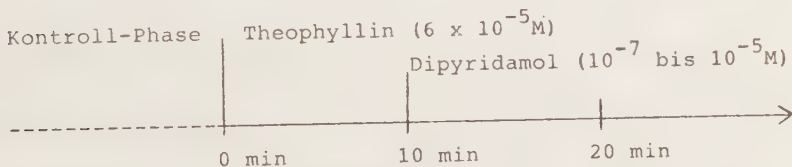
2. Elektrisch stimulierte Meerschweinchenherzen

Die Applikation von Dipyridamol in Konzentrationen $> 10^{-6}M$ führte fast immer zu elektrischen Überleitungsstörungen, die sich als bradykarde Rhythmusstörungen bis zum totalen AV-Block manifestierten. Um diesen Effekt zu verhindern, wurde die Frequenz der isolierten Meerschweinchenherzen mit Hilfe eines elektrischen Schrittmachers über zwei in die Ventrikelmuskulatur eingestochene Elektroden konstant gehalten, und zwar bei Werten, die etwa 30-40 Schläge/min

höher lagen als die Spontanfrequenz der Herzen nach Isolierung. Ansonsten war die Versuchsdurchführung wie bereits unter 1 beschrieben.

3. Theophyllin-vorbehandelte Meerschweinchenherzen

Theophyllin wurde in einer Konzentration von $6 \times 10^{-5} \text{ M}$ mit dem Perfusat fortlaufend appliziert, wie im folgenden Schema des Versuchsablaufs dargestellt ist:



10 min nach Beginn der Theophyllin-Applikation erfolgte zusätzlich die Gabe von Dipyridamol in verschiedenen Konzentrationen. Pro Herz wurde wiederum nur eine Dipyridamol-Konzentration untersucht.

4. Intrakoronare Infusion von Adenosindesaminase

Zur Erkennung einer direkten Beteiligung von Adenosin an der koronardilatierenden Wirkung von Dipyridamol wurde Adenosindesaminase (ADA) in Höhe der Aortenkanüle in den Perfusatsstrom infundiert. Die verwendete Adenosindesaminase aus Kälberdarmmukosa lag in Form der katalytischen Untereinheiten vor (Saito et al. 1981). Das mittlere Molekulargewicht betrug ca. 30,000, ging aber bis hinunter auf etwa 17,000 (R. Rubio, persönliche Mitteilung). Die Enzymaktivität im Koronarperfusat betrug 2,3 Einheiten/ml.

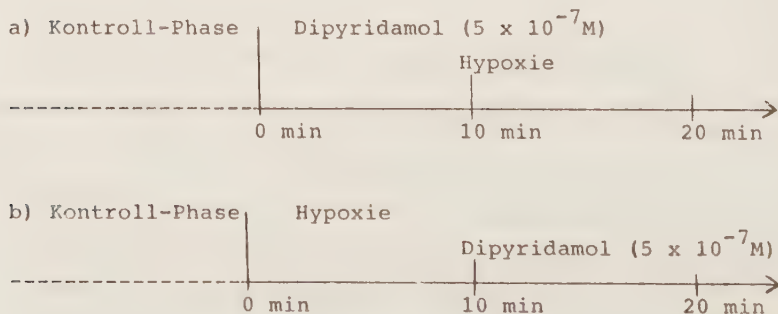
Die ADA-Infusion erfolgte in der Regel 10 min nach Applikationsbeginn von Dipyridamol ($5 \times 10^{-7} \text{M}$). In einigen Versuchen wurde ADA bereits 8 min vor dem Koronardilatator gegeben, um auch die Eigenwirkung auf den Koronarfluß zu erfassen.

Analoge Versuche wie mit Dipyridamol erfolgten auch mit Papaverin (10^{-5}M).

5. Hypoxisch perfundierte Meerschweinchenherzen

Zur Erzeugung der Hypoxie war das Perfusat mit einem Gasgemisch, bestehend aus 5,6% CO_2 - 64,4% N_2 - 30% O_2 , gesättigt. Die Herzfrequenz wurde, wie unter 2. beschrieben, mittels elektrischer Stimulation konstant gehalten.

Im einzelnen wurden zwei verschiedene Protokolle (a und b) realisiert. Den zeitlichen Ablauf dieser Versuchsprotokolle gibt folgendes Schema wieder:



In Protokoll a) wurden normoxisch perfundierte Herzen

(94,4% O₂) zuerst mit Dipyridamol behandelt und dann zusätzlich hypoxisch weiter perfundiert; in Protokoll b) wurden hypoxisch perfundierte Herzen zusätzlich mit Dipyridamol behandelt.

6. Spontan schlagende Rattenherzen

Auch an isoliert perfundierten, spontan schlagenden Rattenherzen wurde der Einfluß von Dipyridamol in zwei Konzentrationen ($5 \times 10^{-7} \text{ M}$ und 10^{-5} M) auf Koronarfluß, koronarvenöse Adenosinabgabe und Funktionsparameter (Frequenz, LVP, dP/dt_{max}) untersucht. Der Versuchsablauf war ähnlich wie bei Meerschweinchenherzen (vgl. S. 14); allerdings wurden die Herzen beiden Dipyridamolkonzentrationen ausgesetzt, wobei zwischen der Applikation der niedrigen und der hohen Dosis ein Auswaschintervall von 15 min lag.

III. ANALYTISCHER TEIL

a) Konzentrationsbestimmung von Adenosin und Inosin

1. Probengewinnung: Koronares Effluat (10 bis 25 ml) wurde in eisgekühlten Erlenmeyer-Kolben unter ständigem Rühren gesammelt und bis zur Weiterverarbeitung (nach 30 bis 60 min) im Eisbad bei 0°C gehalten.

2. Probenverarbeitung: Die Trennung der Nukleoside Adenosin und Inosin von Nukleotiden und Salzen erfolgte an

SEP-PAK (C-18)-Säulen (Waters Ass., Milford, U.S.A.).

Unmittelbar vor der Probenauftragung wurden die Säulchen mit 5 ml reinem Methanol, gefolgt von 10 ml entionisiertem Wasser (Millipore) gespült. Nach dem vollständigen Durchlaufen der Proben erfolgte eine Zwischenspülung mit 0,5 ml verdünnter Essigsäure (pH 4), ehe die Nukleoside mittels 5 ml Methanol-Lösung (20% V/V in Wasser) eluiert wurden. Die Ausbeute an Adenosin betrug durchschnittlich 88%, die von Inosin ca. 68%.

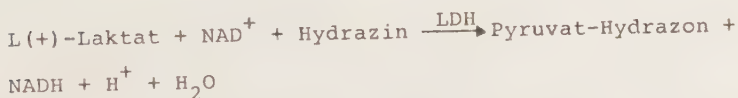
3. Probenaufbewahrung: Die Eluate wurden im Vakuum (ca. 1-5 Torr) bei 30°C zur Trockne eingengt und bei -20°C bis zur Analyse aufbewahrt.

4. Analyse durch Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC): Zur Trennung von Adenosin und Inosin wurde das Verfahren der reverse-phase Hochdruckflüssigkeitschromatographie angewandt. Unmittelbar vor der Messung wurden die Nukleosid-Proben in 200 µl Wasser aufgenommen und auf eine Säule (0,4 x 25 cm), gepackt mit Nukleosil C-18 (7µ) (Macherey-Nagel, Düren, FRG) aufgetragen. Die Elution erfolgte mit einem linearen Wasser:Methanol-Gradienten (24% Methanol nach 20 min; Flußrate 1,0 ml/min), mit nachfolgender photometrischer Detektion bei 254 nm. Das Pumpensystem war von der Firma Varian (Model 5000). Die Quantifizierung erfolgte durch Messen der Fläche unter den Absorptionskurven und anschließendem Vergleich mit Flächen ebenfalls chromatographierter Standardproben von Adenosin und Inosin.

b) Konzentrationsbestimmung von Laktat im koronaren
Effluat

Koronares Effluat (ca. 2 ml) wurde in Reaktionsgefäßen (Eppendorf) gesammelt und bis zur Analyse bei -20°C aufbewahrt.

Das Prinzip der Laktatbestimmung beruht auf folgender, durch Laktatdehydrogenase (LDH) katalysierten Reaktion:



Zur Herstellung des Reaktionsgemisches für die Laktatbestimmung wurden Glycin (1,19 g) und Hydrazin (0,6 ml) in 10 ml Wasser gelöst. Ein pH von 9,5 wurde mit NaOH (5 N) eingestellt. NAD^{+} (62 mg) und LDH (140 μl , entsprechend 285 IE) wurden dazugegeben und das Volumen auf 17 ml aufgefüllt. Für die Laktatmessung wurden 0,2 ml dieses Puffer-Reaktionsgemisches und 0,5 ml Probe mit dem Dosierautomaten 5163 der Firma Eppendorf gemischt und zunächst 30 min stehen gelassen.

Die Änderung der NADH-Extinktion, die der Menge von Laktat proportional ist, wurde bei 365 nm in einem Spektralphotometer PCP 6121 der Firma Eppendorf gemessen. Daraus wurde die Konzentration von Laktat im koronaren Effluat errechnet (molarer Extinktionskoeffizient von NADH = 3400).

c) Berechnung von Freisetzungsraten

Die Freisetzungsraten von Adenosin, Inosin und Laktat wurden aus dem Produkt der jeweiligen koronarvenösen Konzentration und dem Koronarfluß berechnet. Die Werte sind stets auf Gramm Feuchtgewicht der Herzen bezogen.

d) Statistische Methoden

Arithmetischer Mittelwert, Standardabweichung und mittlere Streuung des Mittelwertes wurden aus den Einzeldaten errechnet. Bei der statistischen Auswertung der Daten wurde der Student t-Test für unabhängige bzw. gepaarte Stichproben angewendet. Die den Signifikanzberechnungen entsprechende Wahrscheinlichkeit p wurde in üblicher Weise ermittelt (vgl. Statistics for medical students, Hoffmann, R.G., Springfield: Thomas, 1963) und ein p-Wert $< 0,05$ als signifikant angesehen.

ERGEBNISSE

I. Quantifizierung der Adenosinabgabe in Gegenwart von Dipyridamol

1. Spontan schlagende Meerschweinchenherzen

Um festzustellen, ob Dipyridamol eine Veränderung der koronarvenösen Adenosinabgabe verursacht, wurden zunächst Studien an spontan schlagenden Meerschweinchenherzen vorgenommen. Die Ergebnisse dieser Versuchsserie sind in Abb. 3 dargestellt.

Dipyridamol führte zu einer dosisabhängigen Zunahme der Adenosinabgabe im Koronareffluat. Höhere Konzentrationen als 5×10^{-7} M Dipyridamol verursachten im allgemeinen Störungen der elektrischen Überleitung, die bis zu einem totalen AV-Block führten (mittlere Frequenz in der Kontrollphase: 228 ± 4 /min; nach AV-Block: ca. 60 bis 70 Schläge/min). Gleichzeitig wurde die Adenosinfreisetzung drastisch erhöht. Wie in Abb. 3 gezeigt ist, betrug die mittlere Adenosinabgabe bei 5×10^{-7} M Dipyridamol 1100 pmol/min/g , und bei 10^{-6} M Dipyridamol, nach Eintritt eines AV-Blocks, etwa das 8-fache ($8500 \pm 1990 \text{ pmol/min/g}$). Bei Herzen mit AV-Block führte Steigerung der Dosis von Dipyridamol noch zu einer weiteren Zunahme der Adenosinabgabe. Bei der höchsten untersuchten Konzentration (10^{-5} M) betrug der Wert im Mittel $20000 \pm 2800 \text{ pmol/min/g}$.

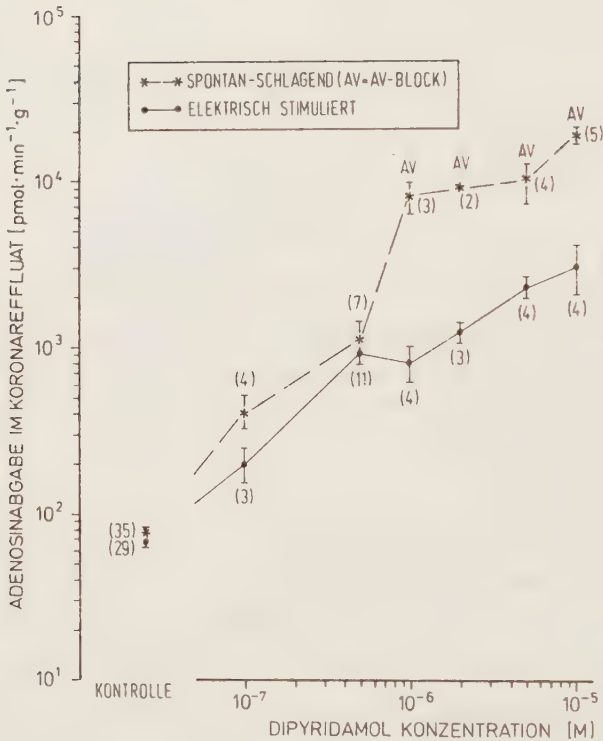


Abb. 3

Dosiswirkungsbeziehung zwischen Dipyridamolkonzentration (10^{-7} bis 10^{-5} M) und Adenosinabgabe im koronarvenösen Effluat von isoliert perfundierten spontan schlagenden und elektrisch stimulierten Meerschweinchenherzen.

* = spontan schlagende Herzen, o = elektrisch stimulierte Herzen.

Mittelwerte ($\pm$ SEM); Zahl der Versuche in Klammern.

2. Elektrisch stimulierte Meerschweinchenherzen

Die Beziehungen zwischen Dipyridamol-Konzentration und Adenosinabgabe bei konstanter Herzfrequenz sind ebenfalls in Abb. 3 dargestellt. Ähnliche Veränderungen wie an spontan schlagenden Herzen wurden bei Dipyridamolkonzentrationen bis zu $5 \times 10^{-7} \text{M}$ gefunden. Zwischen $5 \times 10^{-7} \text{M}$ und 10^{-6}M kam es dagegen zu keiner drastischen Zunahme der Adenosinabgabe; die Freisetzungsrates blieb nahezu unverändert (Mittelwerte: 950 bzw. 810 pmol/min/g, statistisch nicht verschieden). Mit zunehmender Dipyridamolkonzentration stieg die Adenosinabgabe zwar auf etwa 3000 pmol/min/g (10^{-5}M Dipyridamol), aber weit geringer als in den Versuchen an spontan schlagenden Herzpräparaten. Auch waren die Streuungen der Werte kleiner als bei den spontan schlagenden Herzen.

Im Gegensatz zu dem starken Einfluß auf die Adenosin-Freisetzungsrates zeigte Dipyridamol keine Wirkung auf die Inosinabgabe der elektrisch stimulierten Herzen (270 ± 30 pmol/min/g vor Dipyridamol, 230 ± 9 pmol/min/g bei Dipyridamol in Konzentrationen von 10^{-7} bis 10^{-5}M , $n=29$).

Die kardialen Kontraktilitätsparameter LVP und $\text{dp/dt}_{\text{max}}$ sowie die durch Schrittmacher eingestellten Frequenzen der untersuchten Herzen sind in Tabelle 1 aufgeführt. Es waren keine nennenswerten Veränderungen der Kontraktilität mit steigenden Konzentrationen von Dipyridamol zu beobachten.

Tabelle 1

Einfluß von Dipyridamol (10^{-7} bis 10^{-5} M) auf wichtige Funktionsparameter von isoliert perfundierten Meerschweinchenherzen bei einer konstanten, durch elektrische Stimulation vorgegebenen Herzfrequenz.

Die Zahlen sind Mittelwerte ($\pm$ SEM) aus der in Klammern angegebenen Zahl von Versuchen.

Dipyridamol- Konzentration [M]	LVP (mmHg)	dP/dt _{max} (mmHg/sec)	Herz- Frequenz (Schläge/min)
Kontrolle (n=29)	62 $\pm$ 2	1596 $\pm$ 82	280 $\pm$ 3
10^{-7} M (n=3)	61 $\pm$ 8	1360 $\pm$ 80	270 $\pm$ 7
5×10^{-7} M (n=11)	76 $\pm$ 2	1890 $\pm$ 130	280 $\pm$ 6
10^{-6} M (n=4)	80 $\pm$ 7	1790 $\pm$ 70	260 $\pm$ 15
2×10^{-6} M (n=3)	75 $\pm$ 2	1870 $\pm$ 19	280 $\pm$ 4
10^{-5} M (n=4)	66 $\pm$ 5	1530 $\pm$ 190	280 $\pm$ 10

3. Theophyllin-vorbehandelte Meerschweinchenherzen

Theophyllin ist bekannt als kompetitiver Inhibitor von kardialen Adenosineffekten; dabei handelt es sich um solche Wirkungen von Adenosin, die auftreten, wenn das Nukleosid mit dem koronaren Perfusat, d.h. exogen, angeboten wird. Um einen Hinweis zu erhalten, inwieweit die gesteigerte Adenosinabgabe die Ursache der koronardilatierenden Wirkung von Dipyridamol ist, wurden daher die Wirkungsbeziehungen zwischen Dipyridamol-Konzentration und Adenosinabgabe bzw. Koronarflußsteigerung, jeweils in Gegenwart von Theophyllin, ermittelt.

Als Kontrollzustand diente die Adenosinabgabe unter dem alleinigen Einfluß von Theophyllin ($6 \times 10^{-5} \text{M}$). Dieser Wert war mit $98 \pm 17 \text{ pmol/min/g}$ etwas höher als die Adenosinabgabe aus den gleichen Herzen vor Theophyllinapplikation ($59 \pm 7 \text{ pmol/min/g}$). In Tabelle 2 sind diese und weitere Theophyllin-bedingte hämodynamische und metabolische Veränderungen zusammengefaßt. Offensichtlich wirkte Theophyllin in der verwendeten Konzentration ($6 \times 10^{-5} \text{M}$) mäßig positiv chronotrop und positiv inotrop auf die isoliert perfundierten Herzen, wie aus den erhöhten Werten von Herzfrequenz, linksventrikulären Druck und $\text{dp/dt}_{\text{max}}$ zu sehen ist. Die gleichzeitig beobachtete Steigerung des Koronarflusses und der Laktatabgabe läßt eine Zunahme des metabolischen Umsatzes der Herzen als Ursache der leicht vermehrten Adenosinabgabe vermuten.

In Gegenwart von Theophyllin bewirkte Dipyridamol (10^{-7} bis 10^{-5}M) keine signifikanten Veränderungen der Herzfrequenz

Tabelle 2

Wirkung von Theophyllin ($6 \times 10^{-5} \text{M}$) auf hämodynamische und metabolische Parameter von isoliert perfundierten Meer-schweinchenherzen.

Mittelwerte ($\pm$ SEM); n = 21. Alle Parameter wurden durch Theophyllin signifikant verändert ($p < 0,05$).

	KONTROLLE	THEOPHYLLIN ($6 \times 10^{-5} \text{M}$)
HERZ- FREQUENZ (Schläge/min)	228 ± 4	249 ± 5
LVP (mmHg)	60 ± 2	77 ± 3
dP/dt _{max} (mmHg/sec)	1621 ± 77	1938 ± 91
KORONARFLUSS (ml/min/g)	7,3 $\pm 0,6$	8,9 $\pm 0,4$
LAKTATABGABE ($\mu\text{mol/min/g}$)	0,26 $\pm 0,01$	0,38 $\pm 0,02$
ADENOSINABGABE (pmol/min/g)	59 ± 6	98 ± 17

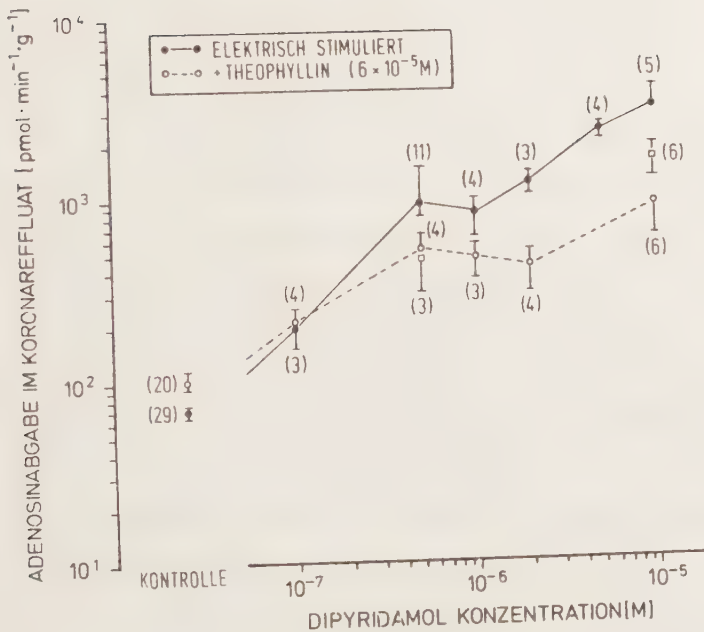


Abb. 4

Wirkungsbeziehung zwischen Dipyridamolkonzentration (10^{-7} bis 10^{-5} M) und Adenosinabgabe im koronarvenösen Effluat von isoliert perfundierten Meerschweinchenherzen bei konstanter elektrischer Stimulation der Ventrikel (●) bzw. in Gegenwart von $6 \times 10^{-5} \text{ M}$ Theophyllin (○ = spontan schlagend, □ = elektrisch stimuliert).

Mittelwerte ($\pm \text{SEM}$), Zahl der Versuche in Klammern.

und der Kontraktilitätsparameter LVP und $dPdt_{max}$.

Die Wirkung von Dipyridamol auf die kardiale Adenosinfreisetzung in Anwesenheit von Theophyllin ist in Abb. 4 dargestellt. Die gestrichelte Linie verbindet Werte, die an spontan schlagenden Herzen bestimmt wurden. Bei zwei Dipyridamolkonzentrationen (5×10^{-7} und $10^{-5}M$) wurden zusätzlich Versuche an Herzen durchgeführt, welche mit einer konstanten Frequenz von ca. 280 Schlägen/min elektrisch stimuliert wurden. Zum Vergleich ist die Wirkungsbeziehung an elektrisch stimulierten Herzen in Abwesenheit von Theophyllin nochmals dargestellt (durchgezogene Linie).

Dipyridamol führte an mit Theophyllin vorbehandelten Herzen, ähnlich wie unter den Versuchsbedingungen 1 und 2, zu einer Steigerung der Adenosinabgabe im Koronareffluat. Im Bereich von 5×10^{-7} bis $2 \times 10^{-6}M$ Dipyridamol betrug die mittlere Adenosinabgabe etwa 500 pmol/min/g und war somit deutlich geringer als in Abwesenheit von Theophyllin ($p < 0,05$). Wie die Werte von Versuchen mit $5 \times 10^{-7}M$ Dipyridamol zeigen, kann diese Differenz nicht auf die unterschiedliche Herzfrequenz zurückgeführt werden (ca. 280 Schläge/min bei allen elektrisch stimulierten Herzen, etwa 240 bei den spontan schlagenden Herzen mit Theophyllin). Bei $10^{-5}M$ Dipyridamol war ein weiterer Anstieg der Adenosinabgaberate auch in Anwesenheit von Theophyllin zu beobachten, insbesondere bei den elektrisch stimulierten Herzpräparaten. Die mittlere Abgaberate von ca. 1600 pmol/min/g dieser Herzen war aber nur halb so groß wie die elektrisch stimulierter Herzen ohne Theophyllin, und lag nur bei 1/10 des Wertes von spontan schlagenden Herzen (vgl. Abb. 3).

II. Quantifizierung der Dipyridamol-induzierten ----- Koronardilatation -----

Im Fall der spontan schlagenden Herzen traten große Schwankungen der Dipyridamol-induzierten Koronardilatation auf, je nach Ausmaß der Herzrhythmusstörungen. Die Erstellung einer genauen Dosis-Wirkungsbeziehung war daher unter diesen Bedingungen nicht möglich.

Wie in Abb. 5 gezeigt ist, führte Dipyridamol zu einer klar erkennbaren konzentrationsabhängigen Steigerung des Koronarflusses bei elektrisch stimulierten Meerschweinchenherzen (geschlossene Kreise). In Bestätigung früherer Befunde anderer Autoren blieb jedoch in Gegenwart von Theophyllin der Koronarfluß praktisch unverändert (Abb. 5, offene Kreise). Lediglich bei höheren Dipyridamolkonzentrationen (10^{-6} bis 10^{-5} M) waren Flußsteigerungen um 25 bis 30% gegenüber den Ausgangswerten zu beobachten. Wie bereits erwähnt (vgl. S. 25), traten dabei keine signifikanten Veränderungen der Herzfrequenz oder der Kontraktilitätsparameter LVP und $\frac{dP}{dt}_{\max}$ in Erscheinung.

Eine Gegenüberstellung der prozentualen Koronarflußsteigerung der einzelnen elektrisch stimulierten Herzen mit der jeweils gemessenen Rate der koronarvenösen Adenosinabgabe (Abb. 6) ließ allerdings eine nur sehr grobe Parallelität erkennen. Offensichtlich beeinflussen bislang nicht weiter charakterisierbare herzeigene Faktoren das Ausmaß der Adenosinfreisetzung; denn auch die Kontrollwerte in Abwesenheit

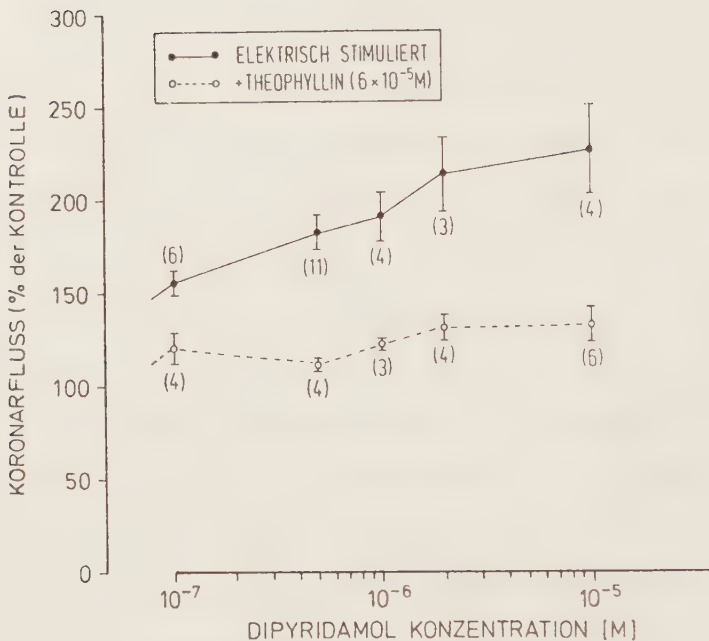


Abb. 5

Die Dipyridamol-induzierte Koronardilatation und ihre Hemmung durch Theophyllin ($6 \times 10^{-5} M$). Die Dosiswirkungsbeziehungen wurden an elektrisch stimulierten Meerschweinchenherzen (●) und in Gegenwart von Theophyllin an spontan schlagenden Herzen (○) ermittelt. Die Werte unter Kontrollbedingungen wurden gleich 100% gesetzt (100% = $8,7 \pm 0,4$ ml/min/g bei elektrisch stimulierten Herzen und $8,9 \pm 0,4$ ml/min/g in Anwesenheit von Theophyllin). Mittelwerte ($\pm$ SEM), Zahl der Versuche in Klammern.

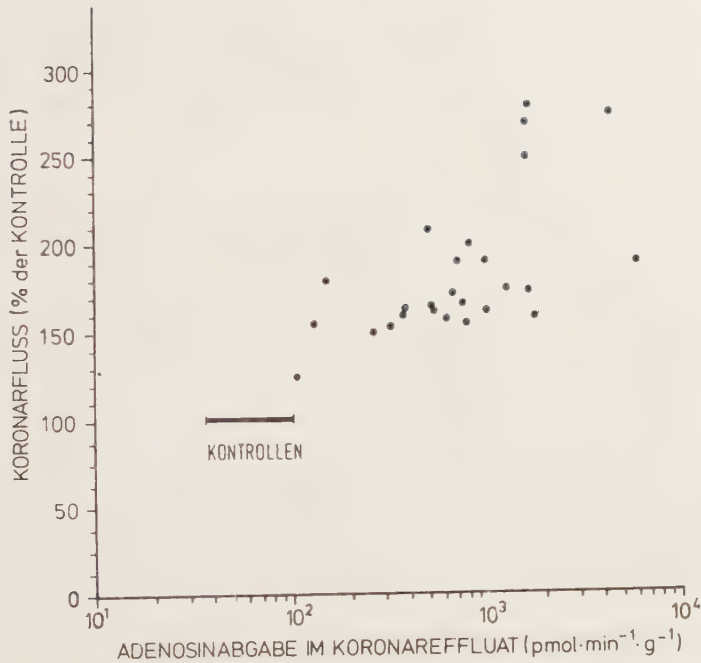


Abb. 6

Vergleich zwischen Koronarflußzunahme und Adenosinabgaberate im Koronareffluat unter dem Einfluß von Dipyridamol (10^{-7} bis 10^{-5} M). Die Daten stellen die Einzelwerte der in Abb. 4 und 5 gemittelten Versuche an elektrisch stimulierten Meerschweinchenherzen dar. Unter Kontrollbedingungen betrug die mittlere Adenosinabgaberate 69 ± 8 pmol/min/g ($\pm$ SEM, n=26), der Koronarfluß $8,7 \pm 4$ ml/min/g (= 100%).

von Dipyridamol wiesen eine erhebliche Streubreite auf ($\pm 50\%$, Abb. 6). Es sei noch darauf hingewiesen, daß auch zwischen der Koronarflußsteigerung und der Konzentration von Adenosin im koronarvenösen Effluat der einzelnen Herzen keine enge Parallelität bestand.

III. Laktat-Freisetzungsrates in Gegenwart von Dipyridamol

Der Einfluß von Dipyridamol auf die Freisetzungsrates von Laktat im Koronareffluat von elektrisch stimulierten Herzen (geschlossene Kreise) und von Theophyllin-vorbehandelten Herzen (offene Kreise) ist in Abb. 7 dargestellt. Um die Laktatabgabe unabhängig vom metabolischen Umsatz der einzelnen Herzen zu erhalten, wurden die Ergebnisse jeweils auf den Wert vor der Dipyridamolgabe (= 100%) bezogen.

In Gegenwart von 10^{-7} und 5×10^{-7} M Dipyridamol betrug die Laktatabgabe bei elektrisch stimulierten Herzen etwa 130% des Ausgangswertes ohne Dipyridamol. Ab 10^{-6} M Dipyridamol nahm die Laktatabgabe kontinuierlich zu und war bei 10^{-5} M Dipyridamol mehr als verdoppelt (im Mittel 210% des Kontrollwertes). Wie in Abb. 7 eindeutig zu erkennen ist, fand dagegen keine von der Dipyridamolkonzentration abhängige Steigerung der Laktatfreisetzung in Gegenwart von Theophyllin (6×10^{-5} M) statt. Die geringfügigen Änderungen gegenüber den jeweiligen Kontrollwerten mit Theophyllin allein waren statistisch nicht signifikant.

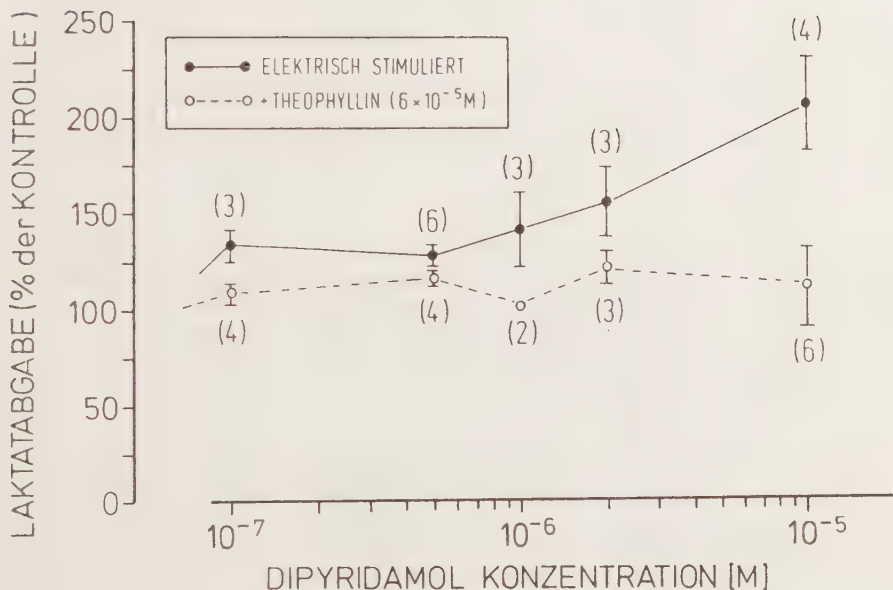


Abb. 7

Die Dipyridamol-induzierte Laktatfreisetzung und ihre Hemmung durch Theophyllin ($6 \times 10^{-5} \text{ M}$). Die Dosiswirkungsbeziehungen wurden an elektrisch stimulierten Meer-schweinchenherzen (●) und in Gegenwart von Theophyllin an spontan schlagenden Herzen (○) ermittelt. Die Werte unter Kontrollbedingungen wurden gleich 100% gesetzt (100% = $0,31 \pm 0,1 \text{ } \mu\text{mol/min/g}$ bei elektrisch stimulierten Herzen und $0,38 \pm 0,02 \text{ } \mu\text{mol/min/g}$ in Gegenwart von Theophyllin). Mittelwerte ($\pm \text{SEM}$), Zahl der Versuche in Klammern.

In drei zusätzlichen Versuchen bei 10^{-5} M Dipyridamol wurden Theophyllin-behandelte Herzen elektrisch stimuliert (280 Schläge/min). Die Laktatabgabe unter diesen Bedingungen betrug 128% des Wertes vor Dipyridamol, ähnlich wie bei den nicht stimulierten Herzen in Anwesenheit von Theophyllin.

IV. Einfluß von Adenosindesaminase auf die Dipyridamol-
bzw. Papaverin-induzierte Koronardilatation und
Adenosinabgabe

Zur Demonstration eines ursächlichen Zusammenhangs zwischen der Dipyridamol-bedingten Koronarflußsteigerung und der vermehrten Freisetzung von Adenosin wurde eine niedermolekulare Adenosindesaminase (ADA), die in den interstitiellen Raum des Herzens gelangt (Saito et al. 1981) in hoher Enzymaktivität (2,3 Einheiten/ml Koronarperfusat) infundiert. Dieses Enzym hatte keinen Einfluß auf die basalen Flußwerte. Wie aus Abb. 8 ersichtlich, wurde aber die koronardilatierende Wirkung von Dipyridamol (5×10^{-7} M) durch Applikation der niedermolekularen Adenosindesaminase vollständig aufgehoben. Auch bei höheren Dipyridamolkonzentrationen (10^{-5} M) war dies der Fall (Ergebnisse nicht dargestellt). Es spielte keine Rolle, ob ADA bereits vor oder erst während der Dipyridamol-Perfusion gegeben wurde. Auch war die hemmende Wirkung bei Enzym-freier Weiterperfusion langsam reversibel. Interessanterweise vermochte die

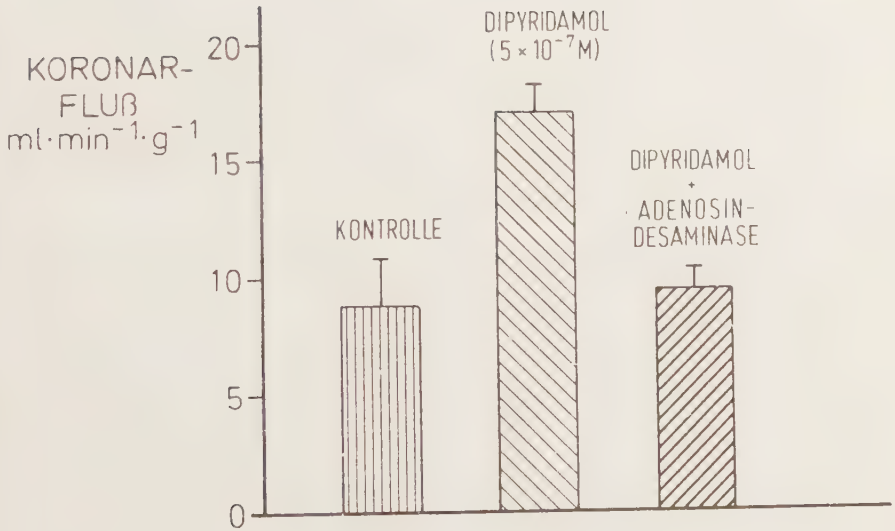


Abb. 8

Einfluß von Adenosin-desaminase (2,3 U/ml) auf die koronar-dilatierende Wirkung von Dipyridamol ($5 \times 10^{-7} \text{M}$). Mittelwerte ($\pm \text{SEM}$) aus 8 Experimenten an spontan schlagenden Meerschweinchenherzen.

Applikation von ADA ebenfalls einen durch Dipyridamol-Perfusion ausgelösten AV-Block zu beseitigen.

Im koronarvenösen Effluat konnte in Gegenwart von ADA nur noch der vasoinaktive Metabolit Inosin, aber kein Adenosin nachgewiesen werden. Bei $5 \times 10^{-7} \text{ M}$ Dipyridamol entsprach dabei das abgegebene Inosin ($530 \pm 200 \text{ pmol/min/g}$) etwa der Summe der Adenosin- und Inosin-Abgabe in Abwesenheit von Adenosindesaminase (Adenosin 300 ± 100 , Inosin $190 \pm 50 \text{ pmol/min/g}$, Mittelwerte $\pm \text{ SEM}$, $n=5$).

Aus Vergleichsgründen schien es interessant zu klären, ob an Meerschweinchenherzen die Papaverin-induzierte Koronardilatation von einer gesteigerten Adenosin-Abgabe begleitet wird, und inwiefern diese Dilatation durch Adenosindesaminase beeinflusst wird. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 3 aufgeführt. Papaverin (10^{-5} M) wirkte stärker koronarerweiternd als Dipyridamol, und diese Wirkung wurde nur teilweise durch ADA abgeschwächt. In Übereinstimmung mit dieser lediglich partiellen Hemmung verursachte zwar auch Papaverin eine deutliche Steigerung der Adenosinabgabe (von 40 auf etwa 540 pmol/min/g , vgl. Tabelle 3), auf der Basis der erzielten Gesamtdilatation war aber das Ausmaß der Adenosinabgabe weit geringer als bei Dipyridamol (vgl. Abb. 6).

Tabelle 3

Einfluß von Adenosindesaminase (ADA, 2,3 U/ml) auf die Papaverin-induzierte Koronarflußsteigerung und Adenosinfreisetzung bei spontan schlagenden Meerschweinchenherzen. Mittelwerte ($\pm$ SEM); n = 4.

(*) = nicht nachweisbar

	KONTROLLE	PAPAVERIN (10^{-5} M)	PAPAVERIN + ADA
KORONARFLUSS (ml/min/g)	8,7 $\pm$ 0,5	25 $\pm$ 1	21 $\pm$ 0,5
ADENOSINABGABE (pmol/min/g)	43 $\pm$ 7	541 $\pm$ 135	(*)
dP/dt _{max} (mmHg/sec)	1229 $\pm$ 44	1729 $\pm$ 44	1606 $\pm$ 43
LVP (mmHg)	44 $\pm$ 1	61 $\pm$ 2	55 $\pm$ 3
HERZFREQUENZ (Schläge/min)	220 $\pm$ 5	233 $\pm$ 5	231 $\pm$ 4

V. Wirkung von Dipyridamol auf hypoxisch perfundierte

Meerschweinchenherzen

Um den Einfluß von Dipyridamol auf die kardiale Adenosinabgabe in einem Zustand massiv gesteigerter Adenosinbildung zu untersuchen, wurde eine globale "hypoxämische" Hypoxie herbeigeführt (30 Vol.% O₂). Die im koronarvenösen Effluat bestimmten Adenosinwerte sowie die Werte der Inosinabgabe sind in Abb. 9 dargestellt.

Bei hypoxischer Perfusion stieg die Adenosinabgabe auf mehr als das 30-fache an. Dipyridamol (5×10^{-7} M) bewirkte lediglich eine weitere Zunahme um ca. 420 pmol/min/g. Dies ist etwa der gleiche Absolutbetrag, der auch unter normoxischen Bedingungen in Gegenwart von Theophyllin gefunden wurde (vgl. Abb. 4). Die Inosinabgabe wurde durch die hypoxische Perfusion ebenfalls stark erhöht, im Mittel von 140 auf 2600 pmol/min/g. Überraschenderweise betrug die Abgabe in Gegenwart von Dipyridamol (5×10^{-7} M) aber nur noch 800 pmol/min/g. Im Gegensatz zu der Wirkung auf die Adenosinabgabe hemmte Dipyridamol demnach die Inosinabgabe unter hypoxischen Bedingungen.

Der Einfluß von Dipyridamol bzw. Hypoxie auf den Koronarfluß war bei den isolierten Herzpräparaten unter den gewählten Versuchsbedingungen nur in geringem Maße additiv. Sowohl Dipyridamol wie Hypoxie bedingten eine Koronarflußzunahme von ca. 75%; in Kombination stieg der Fluß um etwa 87% an.

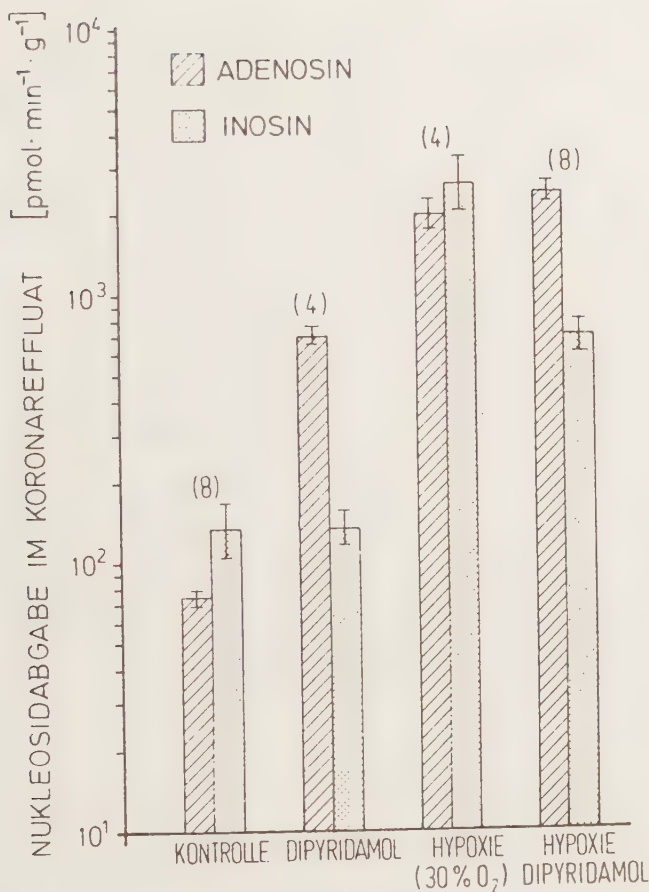


Abb. 9

Einfluß von Dipyridamol ($5 \times 10^{-7} \text{ M}$) auf die Adenosin- und Inosinabgabe im koronarvenösen Effluat von normoxisch bzw. hypoxisch perfundierten Meerschweinchenherzen. Die Herzfrequenz wurde durch elektrische Stimulation der Ventrikel konstant gehalten (270-300 Schläge/min). Mittelwerte ($\pm \text{SEM}$); $n = 4$ bzw. 8.

Die Dipyridamol-bedingte Zunahme der Adenosinfreisetzung bei Hypoxie war statistisch nicht signifikant.

VI. Wirkung von Dipyridamol auf Rattenherzen

Im Gegensatz zu Meerschweinchenherzen kam es an Rattenherzen unter dem Einfluß von Dipyridamol (5×10^{-7} und 10^{-5} M) zu keiner nennenswerten Veränderung der Adenosinabgabe (Tabelle 4). Dieser Befund steht in guter Übereinstimmung mit der koronaren Wirkung; denn selbst in hoher Konzentration verursachte Dipyridamol nur eine sehr kleine Flußsteigerung am isoliert perfundierten Rattenherzen. Wie anhand der anderen in Tabelle 4 aufgeführten hämodynamischen Parameter zu erkennen ist, hatte Dipyridamol (10^{-5} M) eine mäßige positiv inotrope Wirkung. Ähnlich wie im Fall von Theophyllin (vgl. Tabelle 2) scheinen daher die geringfügigen Zunahmen der Adenosinabgabe und des Koronarflusses weitgehend metabolisch bedingt zu sein.

Tabelle 4

Wirkung von Dipyridamol auf isoliert perfundierte Rattenherzen. Mittelwerte ($\pm$ SEM), n=4.

	KONTROLLE	DIPYRIDAMOL	
		$5 \times 10^{-7} \text{ M}$	10^{-5} M
KORONARFLUSS (ml/min/g)	$\pm \begin{matrix} 5,2 \\ 0,4 \end{matrix}$	$\pm \begin{matrix} 5,3 \\ 0,7 \end{matrix}$	$\pm \begin{matrix} 6,5 \\ 1,6 \end{matrix}$
ADENOSINABGABE (pmol/min/g)	$\pm \begin{matrix} 113 \\ 57 \end{matrix}$	$\pm \begin{matrix} 172 \\ 53 \end{matrix}$	$\pm \begin{matrix} 178 \\ 128 \end{matrix}$
dP/dt _{max} (mmHg/sec)	$\pm \begin{matrix} 1320 \\ 200 \end{matrix}$	$\pm \begin{matrix} 1355 \\ 300 \end{matrix}$	$\pm \begin{matrix} 2020 \\ 790 \end{matrix}$
LVP (mmHg)	$\pm \begin{matrix} 48 \\ 14 \end{matrix}$	$\pm \begin{matrix} 51 \\ 16 \end{matrix}$	$\pm \begin{matrix} 79 \\ 31 \end{matrix}$
HERZFREQUENZ (Schläge/min)	$\pm \begin{matrix} 271 \\ 5 \end{matrix}$	$\pm \begin{matrix} 268 \\ 13 \end{matrix}$	$\pm \begin{matrix} 282 \\ 19 \end{matrix}$

D I S K U S S I O N

Schon bald nach der Entdeckung der gefäßerweiternden Wirkung der Substanz Dipyridamol wurde darauf hingewiesen, daß möglicherweise eine Beziehung zwischen Dipyridamol-induzierter Koronardilatation und der Adenosinkonzentration im Myokard besteht (Gerlach und Deuticke 1963, Imai et al. 1964). Auch zeigte sich, daß Dipyridamol die kardiale Adenosinaufnahme bei verschiedenen Spezies hemmt, so z.B. bei Meerschweinchen (Kolassa et al. 1971, Hopkins et al. 1971), Hunden (Afonso 1970) und Kaninchen (Liu et al. 1973), jedoch nicht bei der Ratte (Kolassa et al. 1971, Hopkins et al. 1971).

Ein besonders interessantes Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen zur Klärung des Mechanismus der Dipyridamolwirkung ist der Nachweis, daß Dipyridamol zu einer konzentrationsabhängigen Zunahme der Adenosinfreisetzung in das Koronareffluat des isoliert perfundierten Meerschweinchenherzens führt (Abb. 3), und zwar im gleichen Konzentrationsbereich, wie die Koronarflußzunahme zu beobachten ist (Abb. 5). Andererseits verursacht Dipyridamol (5×10^{-7} und 10^{-5} M) an Rattenherzen weder eine nennenswerte Veränderung der Adenosinabgabe, noch eine die metabolischen Bedürfnisse des Myokards übersteigende Koronarflußzunahme (Tabelle 4). Diese Tatsachen deuten bereits auf eine kausale Beziehung zwischen der Adenosinfreisetzung und der Dipyridamol-bedingten Koronardilatation hin.

Ein unmittelbarer Hinweis auf die direkte Beteiligung von Adenosin an der durch Dipyridamol induzierten Koronardilatation ergibt sich aus dem Befund, daß an Meerschweinchenherzen die Koronardilatation nach Dipyridamol durch Adenosindesaminase vollständig aufgehoben werden konnte (Abb. 8). Diese Untersuchungen zeigen darüber hinaus, daß Dipyridamol im Konzentrationsbereich bis $10^{-5}M$ keine gefäßerweiternde Eigenwirkung aufweist. Abgesehen davon stehen sie in guter Übereinstimmung mit Befunden von Henrichs et al. (1982) am Hundeherzen in situ.

Auffällig war der eher qualitative als quantitative Zusammenhang zwischen der beobachteten Koronarflußsteigerung und der Adenosinfreisetzung bzw. der Adenosinkonzentration im koronarvenösen Effluat der einzelnen Herzen (Abb. 6).

Offensichtlich stellt die Adenosinabgabegeschwindigkeit ein eher indirektes Maß für die am Wirkort, d.h. an der glatten Gefäßmuskulatur, vorhandene Adenosinkonzentrationen dar.

Dieser Befund überrascht nicht, wenn man die erst in neuester Zeit bekannt gewordene metabolische Barrierefunktion des Koronarendothels bezüglich der Passage von Adenosin berücksichtigt (Nees et al. 1983; Nees 1985).

Ein weiterer, interessanter Beleg für die Adenosin-vermittelte Wirkungsweise von Dipyridamol ergab sich aus den Studien mit Theophyllin. Theophyllin ist bekanntlich ein kompetitiver Antagonist von Adenosin und Dipyridamol. Es blockiert die vasodilatatorische sowie die negativ dromotrope Wirkung von exogen appliziertem Adenosin ebenso wie

die von Dipyridamol (Afonso, 1970; Schaumann et al. 1970; Büniger et al. 1975; Merrill et al. 1982). Obwohl Theophyllin möglicherweise an die Adenosinrezeptoren der Zellmembran gebunden wird (Belardinelli et al. 1980, 1981; Olsson et al. 1984), blieb bislang die Frage ungeklärt, ob Theophyllin eventuell die Wirkung von Dipyridamol auf der Ebene der Adenosinfreisetzung hemmt. Da Theophyllin im Gegensatz zu Dipyridamol und Papaverin selbst keinen Einfluß auf die kardiale Adenosinaufnahme zu haben scheint (Huang et al. 1976; Mustafa 1979), wurde die Beziehung zwischen Dipyridamolkonzentration und Adenosinabgabe auch in Gegenwart von Theophyllin untersucht.

In Anwesenheit von Theophyllin zeigte sich im Konzentrationsbereich bis 10^{-6} M Dipyridamol eine fast unverminderte Zunahme der Adenosinfreisetzung bei einer weitgehenden Blockade der dilatatorischen Wirkung (Abb. 4 und 5). Eine Hemmwirkung, basierend hauptsächlich auf einer direkten Interaktion zwischen Theophyllin und Dipyridamol, kann daher nicht vorliegen. Nachdem Adenosin stets in Mengen freigesetzt wurde, die in Abwesenheit von Theophyllin eine Koronardilatation bedingen (Abb. 4, 6 und 8), läßt sich aus diesen Ergebnissen folgern, daß Theophyllin die vasodilatatorische Wirkung des endogen freigesetzten Adenosins blockiert. Diese Aussage verdient vor allem deshalb Beachtung, da bislang lediglich der Nachweis für eine Hemmung der Wirkung von exogen zugeführtem Adenosin durch Theophyllin vorlag. Erwähnt sei in diesem Zusammenhang, daß

Theophyllin in der verwendeten Konzentration von $6 \times 10^{-5} \text{M}$ noch keine direkte Gefäßwirkung hatte. Die geringfügige Koronardilatation, die zu beobachten war, kann dem positiv inotropen und chronotropen Effekt und dem damit stimulierten Metabolismus der Herzen zugeschrieben werden (Tabelle 2).

Die in den Versuchen mit Papaverin gewonnenen Erkenntnisse sprechen ebenfalls für eine Hemmung endogen freigesetzten Adenosins durch Theophyllin. Es ist bekannt, daß Theophyllin die Papaverin-induzierte Koronardilatation lediglich partiell hemmt (Bünger et al. 1975). Um eben diesen Anteil (20%) verringert auch die Applikation von ADA die Papaverin-bedingte Koronardilatation (Tabelle 3). Anders als bei Dipyridamol muß die Wirkung von Papaverin auf die Koronargefäße hauptsächlich auf einem Adenosin-unabhängigen Mechanismus beruhen.

Im Gegensatz zu der Wirkung von Theophyllin auf die Dipyridamol-induzierte Adenosin-vermittelte Dilatation erwies sich Theophyllin als nicht oder nur schwach hemmend bei postischämischer reaktiver Hyperämie sowie bei anhaltender Hyperämie infolge von Hypoxämie bzw. inotroper Stimulation (Wadsworth et al. 1972; Bünger et al. 1977; Saito et al. 1981; Jones et al. 1982). Entsprechend der Adenosin-Hypothese der metabolischen Regulation der Koronardurchblutung sollte endogen gebildetes Adenosin für diese Vasodilatation verantwortlich sein (Berne et al. 1983). Nachdem unsere Untersuchungen nun gezeigt haben, daß Theophyllin grundsätzlich in der Lage ist, endogen freigesetztes Adenosin in

seiner Wirkung zu blockieren, muß die Bedeutung von Adenosin als koronarflußregulierender Metabolit vorsichtiger eingeschätzt werden. Offensichtlich kann die Verminderung einer Adenosin-vermittelten Dilatation mittels Theophyllin oder Adenosindesaminase durch andere gefäßrelaxierende Mechanismen voll ausgeglichen werden. Ähnliche Schlußfolgerungen sind in den letzten Jahren aus Untersuchungen mit Adenosindesaminase (Saito et al. 1981; Henrichs et al. 1983; Dole et al. 1985) und auf Grund des Zeitverlaufs der Adenosinfreisetzung bei inotroper Stimulation (De Witt et al. 1983) gezogen worden.

Interessant erscheint die Frage, wie Dipyridamol die vermehrte Freisetzung von Adenosin verursacht. Ganz offensichtlich ist hierbei eine Hemmung der Adenosinwiederaufnahme in die Kardiomyozyten von primärer Bedeutung. Dies ergibt sich einerseits aus der ebenfalls vermehrten Abgabe von Adenosin in Gegenwart von Papaverin, welches, wie Dipyridamol, die myozytäre Adenosinaufnahme hemmt (Huang et al. 1976; Mustafa 1979), und andererseits aus dem Spezies-Vergleich Meerschweinchen-Ratte. Bei Meerschweinchen hemmt Dipyridamol die Aufnahme und setzt infolge einer nicht nennenswert veränderten zellulären Abgabe vermehrt Adenosin frei; bei der Ratte ist Dipyridamol nahezu ohne Wirkung auf Aufnahme (Hopkins et al. 1971; Belardinelli et al. 1982) und Freisetzung (Tabelle 4).

Befunden von Kolassa et al. (1970) sowie von Belardinelli et al. (1982) zufolge, dürfte an Meerschweinchenherzen die

Wiederaufnahmehemmung bei Dipyridamol-Konzentrationen von etwa $10^{-6}M$ maximal ausgeprägt sein. Ähnlich fanden Nees et al. (1983) an gezüchteten Endothelzellen aus Meerschweinchen-Koronargefäßen eine 80%ige Hemmung der Adenosinaufnahme bereits bei $10^{-8}M$ Dipyridamol. In den hier vorliegenden Studien wurde jedoch bei Dipyridamolkonzentrationen $> 10^{-6}M$ noch eine dosisabhängige Zunahme der Adenosinabgabe in das Koronareffluat beobachtet (Abb. 3).

Zur weiteren Steigerung der Adenosinabgabe bei hohen Dipyridamolkonzentrationen tragen möglicherweise mehrere Faktoren bei. Aus dem Vergleich der Dosis-Wirkungskurven von spontan schlagenden mit elektrisch stimulierten Herzen ist zu erkennen, daß im Fall der spontan schlagenden Herzen der Eintritt von bradykarden Rhythmusstörungen (AV-Block) bei Dipyridamolkonzentrationen $> 10^{-6}M$ mit einer starken Erhöhung der Adenosinabgabe verbunden war. Als Ursache käme eine Arrhythmie-bedingte, unzureichende Perfusion des Myokards in Frage, die zu einem erhöhten ATP-Abbau führt. Allerdings trat auch nach Beseitigung der Dipyridamol-bedingten Herzrhythmus-Störungen durch elektrische Stimulation noch eine etwa 3-fache Zunahme der Adenosinabgabe nach 10^{-6} und $10^{-5}M$ Dipyridamol auf.

In Gegenwart von Theophyllin, d.h. nach Ausbleiben von Rhythmusstörungen und der Dipyridamol-bedingten Koronarflußsteigerung (Abb. 5), entsprach die Konzentrations-Wirkungsbeziehung (Abb. 4) weitgehend der in der Literatur beschriebenen Abhängigkeit für die Hemmung der Adenosinaufnahme durch Dipyridamol (vgl. Kolassa et al. 1970;

Mustafa 1979). Unter dem Einfluß von Theophyllin scheint demnach die gesteigerte Adenosinfreisetzung zunächst ausschließlich auf einer Hemmung der myokardialen Adenosinwiederaufnahme durch Dipyridamol zu beruhen. Anhand des ermittelten Abgabewertes im Bereich von 5×10^{-7} bis 5×10^{-6} M Dipyridamol dürfte die Transportkapazität für den Wiederaufnahmeprozess von Adenosin in normoxisch perfundierten, isolierten Meerschweinchenherzen bei etwa 400 bis 500 pmol/min/g liegen. Die erneute Zunahme der Adenosinabgabe bei 10^{-5} M Dipyridamol könnte unter anderem durch eine beginnende Hemmung der myokardialen Adenosindesaminaseaktivität bei dieser hohen Dipyridamolkonzentration bedingt sein (Deuticke und Gerlach 1966).

Überraschenderweise war die Dipyridamol-induzierte Adenosinabgabe aus Theophyllin-vorbehandelten Herzen geringer als bei elektrisch stimulierten Herzen, und zwar unabhängig von den jeweiligen Absolutwerten der Herzfrequenz. Bei den elektrisch stimulierten Meerschweinchenherzen fällt außerdem auf, daß die Laktatabgabe oberhalb einer Konzentration von 5×10^{-7} M Dipyridamol signifikant zunimmt (Abb. 7). Die Tatsache, daß die Herzen normoxisch perfundiert wurden, die Funktionsparameter Herzfrequenz, $dp/dt_{\max}$ und LVP weitgehend konstant blieben (Tabelle 1), und trotzdem bei Erhöhung des Koronarflusses die Laktatabgabe zunahm, spricht eindeutig für ein Mißverhältnis zwischen myokardialem Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf.

Die Induktion von regionalen Minderperfusionen durch

Dipyridamol ist kein unerwartetes Phänomen. Da nämlich Dipyridamol eine globale Relaxation der kleinen Widerstandsgefäße herbeiführt (Fam und McGregor 1968), ungeachtet der regionalen metabolischen Bedürfnisse, kann es zur Ausbildung von minderperfundierten Myokardbezirken kommen ("Coronary Steal") (Marshall et al. 1973; Feldman et al. 1981; Beller et al. 1983; Viritanen 1983; Beller 1985). In diesen Bezirken erfolgt dann ein vermehrter ATP-Abbau mit konsekutiv gesteigerter Adenosinabgabe. Ähnlich wie in unseren Studien an isolierten Herzen fanden Feldman et al. (1981) bei Menschen nach intravenöser Applikation von Dipyridamol eine erhöhte Laktatfreisetzung, allerdings aus Myokardbezirken, die angiographische Anomalien aufwiesen. Unter dem Aspekt einer inhomogenen Flußverteilung wird auch die Wirkung von Theophyllin verständlich. Durch Verhinderung der Adenosin-vermittelten Flußsteigerung kann Theophyllin in unseren Versuchen die Ausbildung von Flußinhomogenitäten unterbinden. Dementsprechend ist nicht nur die Adenosinabgabe geringer, sondern auch die erhöhte Laktat-abgabe bleibt aus (Abb. 7).

Eine weitere Bestätigung für den Beitrag sowohl der Wiederaufnahmehemmung wie eines "Coronary Steal" am Zustandekommen der gesteigerten Adenosinabgabe in Gegenwart von Dipyridamol findet sich in den Untersuchungen an hypoxisch perfundierten Herzen. Unter der gewählten Bedingung einer globalen, hypoxischen Perfusion sind "Coronary Steal"-Effekte bereits manifest und die zusätzliche Gabe

von Dipyridamol sollte nur den Anteil von Adenosin beeinflussen, der infolge von Wiederaufnahme in die Kardiomyozyten und in das Koronarendothel nicht im koronarvenösen Effluat erscheint. Erwartungsgemäß hatte die Anwesenheit von $5 \times 10^{-7} \text{ M}$ Dipyridamol eine Steigerung der Adenosinabgabe bei hypoxischer Perfusion zur Folge, und zwar um ca. 420 pmol/min/g. Dieser Wert entspricht nahezu quantitativ der Transportkapazität des Wiederaufnahmeprozesses in Gegenwart von Theophyllin am normoxisch perfundierten Herzen. Es muß aber darauf hingewiesen werden, daß eine isolierte Betrachtung nur des Verhaltens von Adenosin keine adäquate Beschreibung der Dipyridamolwirkung unter hypoxischen Bedingungen zuläßt; denn im Gegensatz zu Adenosin wurde unter diesen Bedingungen die Abgabe von Inosin auf etwa 1/4 reduziert (Abb. 9). Dieser bisher nicht erklärbare Dipyridamol-Effekt findet übrigens auch schon in der früheren Literatur Erwähnung (Kübler et al. 1970).

Bisher gibt es noch keine gesicherten Erkenntnisse zu der Frage, warum sich bei normoxisch perfundierten Herzen der "Coronary Steal"-Effekt bzw. die inhomogene Flußverteilung mit steigender Dipyridamolkonzentration verstärkt. Möglich erscheint eine additive Wirkung von Dipyridamol und Adenosin auf die Bildung von cAMP: Adenosin stimuliert die cAMP-Produktion (Huang et al. 1976), und Dipyridamol hemmt das cAMP-abbauende Enzym Phosphodiesterase (Kukovetz et al. 1970). Ein Anstieg von cAMP im Gefäßmuskel könnte nun zu einer zusätzlichen Vasodilatation führen (vgl. Pösch et al.

1972), die ihrerseits den "Coronary Steal" und damit die Adenosinfreisetzung fördert. Eine additive Aktion der Phosphodiesterase-Hemmstoffe Dipyridamol und Theophyllin wäre auch ein möglicher Grund für die ca. 30%ige Zunahme des Koronarflusses bei der gleichzeitigen Einwirkung von 10^{-5} M Dipyridamol und 6×10^{-5} M Theophyllin (Abb. 5); denn diese Dilatation dürfte kaum Adenosin-bedingt sein.

Das Gesamtergebnis der vorliegenden Studien zur Wirkungsweise von Dipyridamol am isoliert perfundierten Meer-schweinchenherzen ist in Abb. 10 schematisch zusammen-gefaßt.

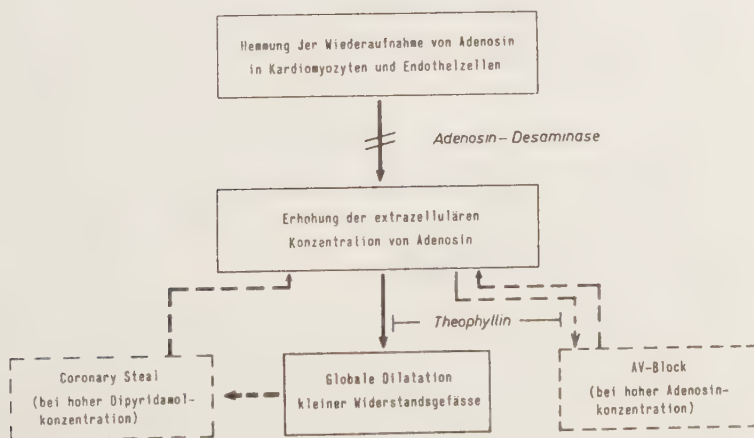


Abb. 10

Schematische Darstellung der verschiedenen nacheinander oder simultan ablaufenden kardialen Wirkungen von Dipyridamol. Eingezeichnet sind außerdem die Angriffspunkte von Adenosindesaminase und Theophyllin.

Durch Hemmung der Wiederaufnahme von endogen gebildetem Adenosin in die Kardiomyozyten und in das Koronarendothel (Primäreffekt der kausalen Wirkkette) verursacht Dipyridamol einen Anstieg der interstitiellen bzw. extrazellulären Konzentration von Adenosin. Diese Zunahme führt einerseits zu einer Dilatation der Koronargefäße und, bei entsprechend hohen Konzentrationen, zusätzlich zu einer Hemmung der elektrischen Erregungsüberleitung im Atrio-Ventrikularknoten. Beide Vorgänge können zu einer gesteigerten Bildung von Adenosin im Myokard führen. Die globale Dilatation der Widerstandsgefäße ruft Flußumverteilungen hervor, die im isoliert perfundierten Herzen eine Minderperfusion von Teilbezirken des Arbeitsmyokards bedingen. Auch Bradyarrhythmien infolge eines AV-Blocks verschlechtern die myokardiale Perfusion. In Gegenwart von Dipyridamol kann dieses "sekundär" entstandene Adenosin nicht in das Gewebe wieder aufgenommen werden, und es kommt somit zu einer Art von "circulus vitiosus", wie durch die gestrichelten Pfeile in Abb. 10 angedeutet ist.

In Gegenwart von Adenosindesaminase unterbleibt der Anstieg von Adenosin im Extrazellularraum und alle hämodynamischen Effekte treten nicht auf. Der Adenosinantagonist Theophyllin verhindert Koronardilatation und AV-Block und unterbindet auf diese Weise die sekundäre Adenosinfreisetzung.

Außer den im Schema aufgeführten Wirkungen von Dipyridamol könnten bei hohen Konzentrationen dieses Pharmakons ($> 10^{-5} \text{M}$) zusätzliche Effekte, wie beispielsweise Hemmung der Adenosindesaminase und der Phosphodiesterase, Bedeutung erlangen.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es, den möglichen Zusammenhang zwischen der Koronargefäß-erweiternden Wirkung der Substanz Dipyridamol und der Abgabe des vasoaktiven Stoffwechselproduktes Adenosin aus dem Myokard zu klären. Hierzu wurden quantitative Messungen der Adenosinfreisetzung aus isoliert perfundierten Herzen von Meerschweinchen und Ratten in Abhängigkeit von der Dipyridamolkonzentration vorgenommen und mit dem Ausmaß der Koronardilatation verglichen. Der kausale Zusammenhang zwischen Adenosinabgabe und Koronarflußzunahme sollte durch Applikation von Adenosindesaminase und Adenosin-antagonistisch wirkendem Theophyllin erhärtet werden.

Die Untersuchungen führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Dipyridamol verursacht eine konzentrationsabhängige Zunahme der Adenosinabgabe aus spontan schlagenden Herzen von Meerschweinchen, aber nicht von Ratten. In Übereinstimmung mit diesem Spezies-spezifischen Unterschied ist Dipyridamol ohne Einfluß auf den Koronarfluß isolierter Rattenherzen. Die Dipyridamol-induzierte Adenosinfreisetzung kann außerdem bei Meerschweinchenherzen bradykarde Rhythmusstörungen (AV-Block) induzieren. Werden die Störungen der Spontanrhythmik durch elektrische Stimulation der Herzen überspielt, so verringert sich die Adenosinabgabe. Dieser Effekt beruht wahrscheinlich darauf, daß unter

AV-Block-Bedingungen eine inadäquate Myokardperfusion zu einem zusätzlichen Abbau energiereicher Adeninnukleotide unter Bildung von Adenosin führt.

2. Es besteht kein strenger quantitativer Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Koronardilatation und der Adenosinabgaberate. Offensichtlich ist die koronarvenöse Adenosinkonzentration kein genaues Maß für die an der glatten Gefäßmuskulatur wirksame Adenosinkonzentration des interstitiellen Raumes.

3. Die Koronarflußzunahme nach Dipyridamol kann durch gleichzeitige Infusion von Adenosindesaminase vollständig aufgehoben werden, wobei nur noch vasoinktives Inosin im Koronareffluat der Herzen erscheint. Auch Theophyllin blockiert die Wirkung von Dipyridamol auf die Gefäßmuskulatur, allerdings wird Adenosin nach wie vor in vasoaktiven Mengen freigesetzt. Demzufolge vermag Theophyllin sehr wohl nicht nur exogen appliziertes, sondern auch endogen freigesetztes Adenosin in seinen kardialen Wirkungen zu hemmen. Hierdurch ergeben sich gewisse neue Aspekte hinsichtlich der Bedeutung von Adenosin für die metabolische Regulation des Koronarflusses, denn Theophyllin wirkt nicht oder nur schwach hemmend bei postischämischer (reaktiver) Hyperämie, und hypoxisch bzw. funktionell bedingter Hyperämie.

4. Der Vasodilatator Papaverin bewirkt ebenfalls eine Steigerung der Adenosinabgabe aus Meerschweinchenherzen. Da die wesentlich stärkere Papaverin-bedingte Gefäßerweiterung aber nur partiell durch Adenosindesaminase und Theophyllin

antagonisierbar ist, kann die Dilatation nur zum Teil durch Adenosin vermittelt sein. Diese Beobachtungen stehen in guter Übereinstimmung mit den bekannten Eigenschaften von Papaverin, das die myokardiale Adenosinaufnahme und zusätzlich auch die Phosphodiesterase hemmt. Die Hemmung der Diesterase ist vermutlich Ursache der Adenosin-unabhängigen Komponente der Papaverin-induzierten Flußzunahme.

5. Dipyridamol scheint, bei einer zunächst unveränderten Adenosinbildungsrate, primär eine Erhöhung der extrazellulären Konzentration von Adenosin durch eine Spezies-spezifische Hemmung der Adenosinwiederaufnahme in Kardiomyozyten und Gefäßendothel hervorzurufen. Die zelluläre Adenosinabgabe wird offensichtlich wenig beeinflusst. Als sekundärer Mechanismus tritt infolge der globalen Gefäßdilatation vermutlich ein "Coronary Steal"-Phänomen hinzu. Durch die inhomogene Flußverteilung werden minderperfundierte Gewebseareale geschaffen, in denen vermehrt Adenosin gebildet und dann in das Koronareffluat abgegeben wird.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. AFONSO, S.
Inhibition of coronary vasodilating action of dipyridamole and adenosine by aminophylline in the dog.
Circ. Res. XXVI: 743-752 (1970)
2. ALMA, S.M., and FEINBERG, H.
Purification and properties of cardiac muscle adenosine kinase
Fed. Proc. 30:507 Abs. (1971)
3. BECKER, B., BARDENHEUER, H., und GERLACH, E.
Koronardilatation und Freisetzung von Adenosin durch Dipyridamol: quantitative Studien.
Z. Kardiol. 72: Suppl. 1, 17 (1983)
4. BELARDINELLI, L., BELLONI, F.L., RUBIO, R., BERNE, R.M.
Atrioventricular conduction disturbances during hypoxia. Possible role of adenosine in rabbit and guinea pig heart.
Circ. Res. 47: 684-691 (1980)
5. BELARDINELLI, L., FENTON, R.A., WEST, A., LINDEN, L., ALTHAUS, J.S., and BERNE, R.M.
Extracellular action of adenosine on the atrioventricular conduction of isolated perfused guinea pig and rat hearts.
Circ. Res. 51: 569-579 (1982)
6. BELARDINELLI, L., MATTOS, E.C., BERNE, R.M.
Evidence for adenosine mediation of atrioventricular block in the ischemic canine myocardium.
J. Clin. Invest. 68: 195-205 (1981)

7. BELLER, G.A., HOLZGREFE, H.H., WATSON, D.D.
Effects of dipyridamole-induced vasodilation on myocardial uptake and clearance kinetics of thallium-201
Circulation 68: 1328-1338 (1983)
8. BERNE, R.M.
Cardiac nucleotides in hypoxia: possible role in regulation of coronary blood flow.
Am. J. Physiol. 204: 317-322 (1963)
9. BERNE, R.M., KNABB, R.M., ELY, S.W. und RUBIO, R.
Adenosine in the local regulation of blood flow: a brief overview.
Federation Proc. 42:15 (1983)
10. BERNE, R.M. und RUBIO, R.
Adenine nucleotide metabolism in the heart.
Circ. Res. 34 und 35 (Suppl. III), 109-118 (1974)
11. BERNE, R.M. und RUBIO, R.
Coronary circulation. In: *Handbook of Physiology*, 2. The Cardiovascular System I. Hrsg.: Berne, R.M., Sperelakis, N., Geiger, S.R. American Physiological Society, Bethesda, Maryland. S. 934-935 (1979)
12. BÖCK, M., MÖLLER, A., NEES, S. und GERLACH, E.
Extrazellulärer Abbau von Adeninnukleotiden durch koronare Endothelzellen (KEZ)
Z. Kardiol. 73, Suppl. 1: 22 (1984)
13. BOWDITCH, J., NIGDIKAR, S., BROWN, A.K., und DOW, J.W.
5'-Nucleotidase activity of isolated mature rat cardiac myocytes.
Biochim. Biophys. A. 845:21-26 (1985)

14. BRETSCHNEIDER, H.J., FRANK, A., BERNARD, U., KOCHSIEK, K., SCHELER, F.
Die Wirkung eines Pyrimidopyrimidin-Derivates auf die Sauerstoffversorgung des Herzmuskels.
Arzneim. Forsch. 9: 49-53 (1959)
15. BÜNGER, R., HADDY, F.J., GERLACH, E.
Coronary responses to dilating substances and competitive inhibition by theophylline in isolated perfused guinea pig heart.
Pflügers Arch. 358:213-224 (1975)
16. CHARLIER, R.
Coronary vasodilators.
Pergamon Press, Oxford (1961)
17. COLLIS, M.G., KEDDIE, J.R., TORR, S.R.
Evidence that the positive inotropic effects of the alkyl-xanthines are not due to adenosine receptor blockade.
Brit. J. Pharmacol. 81:401-407 (1984)
18. CURNISH, R.R., BERNE, R.M., RUBIO, R.
Effect of aminophylline on myocardial reactive hyperemia.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 141:593-598 (1972)
19. DE JONG, J.W.
Partial purification and properties of rat-heart adenosine kinase.
Arch. intern. de Physiol. Biochem. 85:557-569 (1977)
20. DE JONG, J.W., KEIJZER, E.
Dipyridamole affects myocardial adenosine kinase activity.
Arch. intern. de Physiol. Biochem. 87:525-532 (1979)

21. DE JONG, J.W., KEIJZER, E., VITENDAAL, M.P.,
HARMSSEN, E.
Further purification of adenosine kinase from rat-heart
using affinity and ion-exchange chromatography.
Analytical Biochem. 101:407-412 (1980)

22. DEGENRING, F.H., CURNISH, R.R., RUBIO, R., BERNE, R.M.
Effect of dipyridamole on myocardial adenosine
metabolism and coronary flow in hypoxia and reactive
hyperemia in the isolated perfused guinea pig heart.
J. Molec. Cell. Cardiol. 8: 877-888 (1976)

23. DES ROSIERS, C., NEES, S., GERLACH, E.
Purin-Stoffwechsel in kultivierten Endothelzellen
verschiedener vaskulärer Herkunft.
Z. Kardiol. 74, Suppl. 3, 67 (1985)

24. DEUTICKE, B., und GERLACH, E.
Abbau freier Nukleotide in Herz, Skelettmuskel, Gehirn
und Leber der Ratte bei Sauerstoffmangel.
Pflügers Arch. 292:239-254 (1966)

25. DEUTICKE, B., und GERLACH, E.
Kompetitive Hemmung der Adenosin-Desaminase als
mögliche Ursache der koronardilatierenden Wirkung einer
Pyrimidopyrimidin-Verbindung.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmakol. Exp.Pathol.
255:107-119 (1966)

26. DOLE, P.W., YAMADA, N., BISHOP, V.S., OLSSON, R.A.
Role of adenosine in coronary blood flow regulation
after reductions in perfusion pressure.
Circ. Res. 56:517-524 (1985)

27. DOSNE, A.M., BODEVIN, E.
Purine release from [¹⁴C] adenine-labelled endothelial
cells reduction by dipyridamole.
Molec. Physiol. 3:175-181 (1983)

28. DRURY, A.N., SZENT-GYÖRGYI, A.
The physiological activity of adenine compounds with special reference to their action upon the mammalian heart.
J. Physiol. 68:213-237 (1929)
29. FAM, W.M., MCGREGOR, M.
Effect of coronary vasodilator drugs on retrograde flow in areas of chronic myocardial ischemia.
Circ. Res. 15: 355-365 (1964)
30. FAM, W.M., MCGREGOR, M.
Effect of nitroglycerin and dipyridamole on regional coronary resistance.
Circ. Res. 22:649-659 (1968)
31. FELDMAN, R.L., NICHOLS, W.W., PEPINE, C.J., CONTI, C.R.
Acute effect of intravenous dipyridamole on regional coronary hemodynamics and metabolism.
Circulation 64 (2):333-344 (1984)
32. GERLACH, E., DEUTICKE, B.
Bildung und Bedeutung von Adenosin in dem durch Sauerstoffmangel geschädigten Herzmuskel unter dem Einfluss von 2,6-Bis(diäthanolamino)-4,8-dipiperidino-pyrimido (5,4-d)pyrimidin.
Arzneim. Forsch. 13:48-50 (1963)
33. GERLACH, E., DEUTICKE, B.
Vergleichende Untersuchungen über Bildung von Adenosin im Myokard verschiedener Tierspecies bei Sauerstoffmangel.
Klin. Wschr. 44:1307-1310 (1966)
34. HENRICHS, K.J., MATSUOKA, H., SCHAPER, W.
Über die Wirkung von Adenosin-desaminase auf die myokardiale reaktive Hyperämie und die Koronardilatation nach Adenosin, Dipyridamol und Lidoflazin.
Zeitschr. Kardiol. 71: Suppl. 3.22 (1982)

35. HILGER, H.H.
Diskussion um myokardiale Sauerstoffnot in Düsseldorf.
Exakte Analyse und Mut zur patientenbezogenen Therapie.
Selecta 20:1982-1985 (1976)

36. HOCKERTS, T., BOGELMANN, G.
Untersuchungen über die Wirkung von 2,6-Bis(diaethanol-
amino)-4-8-dipiperidino-pyrimido(5,4-d)pyrimidin auf
Herz und Kreislauf.
Arzneim. Forsch. 9:47 (1959)

37. HOPKINS, S.V.
The potentiation of action of adenosine on the guinea
pig heart.
Biochem. Pharmacol. 22:341-348 (1973)

38. HOPKINS, S.V., GOLDIE, R.G.
A species difference in the uptake of adenosine by
heart.
Biochem. Pharmacol. 20:3359-3365 (1971)

39. HUANG, M., DRUMMOND, G.I.
Effect of adenosine on cyclic AMP accumulation in
ventricular myocardium.
Biochem. Pharmacol. 25:2713-2719 (1976)

40. IMAI, S., RILEY, A.L., BERNE, R.M.
Effect of ischemia on adenine nucleotides in cardiac
and skeletal muscle.
Circ. Res. 15:443-450 (1964)

41. JONES, C.E., HURST, T.W., RANDALL, J.R.
Effect of aminophylline on coronary functional
hyperemia and myocardial adenosine.
Am. J. Physiol. 243:H480-H487 (1982)

42. KADATZ, R.
Die pharmakologischen Eigenschaften der neuen coronar-
erweiternden Substanz 2,6-Bis(diaethanolamino)-4,8-
dipiperidino-pyrimido(5,4-d)pyrimidin.
Arzneim. Forsch. 9:39 (1959)
43. KNABB, R.M., GIDDAY, J.M., ELY, S.W., RUBIO, R.,
BERNE, R.M.
Effects of dipyridamole on myocardial adenosine and
active hyperemia.
Am. J. Physiol. 247:H804-H810 (1984)
44. KOLASSA, N., PFLEGER, K., RUMMEL, W.
Specificity of adenosine uptake into the heart and
inhibition by dipyridamole.
Eur. J. Pharmacol. 9:265-268 (1970)
45. KOLASSA, N., PFLEGER, K., TRÄM, M.
Species differences in action and elimination of
adenosine after dipyridamole and hexobendine.
Eur. J. Pharmacol. 13:320-325 (1971)
46. KÜBLER, W., SPIECKERMANN, P.G., BRETSCHNEIDER, H.J.
Influence of dipyridamole on myocardial adenosine
metabolism.
J. Molec. Cell. Cardiol. 1:23-38 (1970)
47. KUKOVETZ, W.R., PÖCH, G.
Inhibition of cyclic 3',5'-nucleotide-phosphodiesterase
as possible mode of action of papaverine and similarly
acting drugs.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol. 267:189
(1970)
48. LANGENDORFF, O.
Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen.
Pflügers Arch. 61:291 (1895)

49. LIU, M.S., FEINBERG, H.
Incorporation of adenosine-8-¹⁴C and inosine-8-¹⁴C into rabbit heart adenine nucleotides.
Am. J. Physiol. 220 (3):1242-1248 (1971)
50. LIU, M.S., FEINBERG, H.
Effect of persantin on nucleoside metabolism of the perfused rabbit heart.
Biochem. Pharmacol. 22:1118-1121 (1973)
51. MARSHALL, R.J., PARRATT, J.R.
The effects of dipyridamole on blood flow and oxygen handling in the acutely ischaemic and normal canine myocardium.
Br. J. Pharmac. 49:391-399 (1973)
52. MANFREDI, J.P., HOLMES, E.W.
Purine salvage pathways in myocardium.
Ann. Rev. Physiol. 47:691-705 (1985)
53. McELROY, F.A., PHILIP, R.B.
Relative potencies of dipyridamole and related agents as inhibitors of cyclic nucleotide phosphodiesterases: possible explanation of mechanism of inhibition of platelet function.
Life Sci. 17:1479-1493 (1975)
54. MCKENZIE, J.E., STEFFEN, R.P., PRICE, R.B., HADDY, F.J.
Effects of theophylline on adenosine and coronary vascular resistance during increased cardiac work.
Physiologist 24:4 (1981)
55. MERRILL, G.F., HADDY, F.J., DABNEY, J.M.
Adenosine, theophylline and perfusate pH in the isolated, perfused guinea pig heart.
Circ. Res. 42 (2):225-229 (1978)

56. MUSTAFA, S.J.

Effects of coronary vasodilator drugs on the uptake and release of adenosine in cardiac cells.

Biochem. Pharmacol. 28:2617-2624 (1979)

57. NAYLER, W.G., PRICE, J.M., LOWE, T.E.

Inhibition of adenosine-induced coronary vasodilation.

Cardiovasc. Res. 1:63-64 (1967)

58. NEES, S.

Der Adeninnukleotid-Stoffwechsel im Koronarendothel:

Neue Befunde zur Adenosin-induzierten Koronarflußsteigerung.

Z. f. Kardiol. 74: Suppl. 3, 48 (1985)

59. NEES, S., GERLACH, E.

Adenine nucleotide and adenosine metabolism in cultured coronary endothelial cells: formation and release of adenine compounds and possible functional implications.

In: Regulatory functions of adenosine. Hrsg.: Berne, R.M., Rall, T.W., Rubio, R. M. Nijhoff Publishers, S.

347-360 (1983)

60. NOGUCHI, K., TOMOIKE, H., OOTSUBO, H., SAKAI, K., NAKAMURA, M.

Difference in site and time course of coronary dilating effects of trapidil, nitroglycerin and dipyridamole in anesthetized dogs.

J. Pharm. Exp. Therap. 219 (3):809-814 (1981)

61. OLSSON, R.A.

Changes in content of purine nucleotide in canine myocardium during coronary occlusion.

Circ. Res. 26:301-306 (1970)

62. OLSSON, R.A.

Structure of the coronary artery adenosine receptor.

TIPS March 113-116 (1984)

63. OLSSON, R.A., GENTRY, M.K., SNOW, J.A.
Steric requirements for binding of adenosine to
membrane carrier in canine heart.
Biochim. Biophys. Acta 311:242-250 (1973)
64. PEDERSEN, A.K.
Specific determination of dipyridamole in serum by
high-performance liquid chromatography.
J. Chromat. 162:98-103 (1979)
65. PREVITALI, M., SALERNO, J.A., CHIMIENTI, M., RAY, M.,
SPEICHA, G., BOBBA, P.
Dipyridamole test in angina pectoris: value and
pathophysiological implications.
Cardiology 69:1 (1982)
66. REMBERT, J.C., BOYD, L.M., WATKINSON, W.P., GREENFIELD,
J.C. Jr.
Effect of adenosine on transmural myocardial blood flow
distribution in the awake dog.
Am. J. Physiol. 239:H7-H13 (1980)
67. RICHMAN, H.G., WYNBORN, L.
Adenosine nucleotide degradation in the rabbit heart.
Am. J. Physiol. 207:1139-1145 (1964)
68. RUBIO, R., BERNE, R.
Release of adenosine by the normal myocardium in dogs
and its relationship to the regulation of coronary
resistance.
Circ. Res. XXV:407-415 (1969)
69. RUBIO, R., BERNE, R.M.
Localization of purine and pyrimidine nucleoside
phosphorylases in heart, kidney, and liver.
Am. J. Physiol. 239:H721-30 (1980)

70. RUBIO, R., KNABB, R.M., ELY, S.W., BERNE, R.M.
Fifty percent decrease in coronary flow responses to hypoxia by "micro" adenosine desaminase.
Fed. Proc. 41:1599 Abs (1982)
71. RUBIO, R., WIEDMEIER, T., BERNE, R.M.
Nucleoside phosphorylase: localization and role in the myocardial distribution of purines.
Am. J. Physiol. 222:550-555 (1972)
72. SAITO, D., STEINHART, C.R., NIXON, D.G., OLSSON, R.A.
Intracoronary adenosine desaminase reduces canine myocardial reactive hyperemia.
Circ. Res. 49:1262-1267 (1981)
73. SCHAUMANN, W., JUHRAN, W., DIETMANN, K.
Antagonismus der Kreislaufwirkungen von Adenosin durch Theophyllin.
Arzneim. Forsch. 20 (3):372-377 (1970)
74. SCHOLZ, H.
Über den Mechanismus der positiv inotropen Wirkung von Theophyllin am Warmblüterherzen.
III. Wirkung von Theophyllin auf Kontraktion und Ca-abhängige Membranpotentialänderungen.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 271:410-429 (1971)
75. SCHRADER, J.
Tierexperimentelle Studien über die Bedeutung von Adenosin für die Regulation der Koronardurchblutung und Myokard-Kontraktilität.
Habilitationsschrift an der Ludwig-Maximilians-Universität (1978)
76. SCHRADER, J., SCHÜTZ, W., BARDENHEUER, H.
Role of S-adenosylhomocysteine hydrolase in adenosine metabolism in mammalian heart.
Biochem. J. 196:65-70 (1981)

77. SCHÜTZ, W., SCHRADER, J., GERLACH, E.
Different sites of adenosine formation in the heart.
Am. J. Physiol. 240:H963-970 (1981)
78. STAFFORD, A.
Potentiation of adenosine and the adenine nucleotides
by dipyridamole.
Brit. J. Pharmac. Chem. 28:218-227 (1966)
79. VIRITANEN, K.S., JAERVINEN, A., ALITALO, R.E.
Flow-volume relations in coronary circulation and
distribution of coronary flow into nutritional and
non-nutritional compartments.
Clin. Physiol. 3: Suppl. 4,349-357 (1983)
80. WADSWORTH, R.M.
The effects of aminophylline on the increased
myocardial blood flow produced by systemic hypoxia or
by coronary artery occlusion.
Eur. J. Pharmacol. 20:130-132 (1972)
81. WEST, J.W., BELLET, S., MANZOLI, V.C., MULLER, O.F.
Effects of persantin (RA 8) a new coronary vasodilator
on coronary blood flow and cardiac dynamics in the dog.
Circ. Rev. 10:35-44 (1962)
82. WILCKEN, D., PAOLANI, H.J., EIKENS, E.
Evidence for intravenous dipyridamole producing
"coronary steal" effect in the ischemic myocardium.
Aust. NZ. J. Med. 1:8-14 (1971)
83. WINBURY, M.M.
Experimental approaches to the development of
antianginal drugs.
Adv. Pharmac. 3:1-82 (1964)

84. WINBURY, M.M., HOWE, B.B., HEFNER, M.A.

Effect of nitrates and other coronary dilators on large and small coronary vessels: an hypothesis for mechanism of action of nitrates.

J. Pharmacol. Exptl. Therap. 168:70-95 (1969)

LEBENS LAUF

Am 12. März 1956 wurde ich in Mexiko-Stadt/Mexiko als Tochter des Ingenieurs Teodoro Overhage und seiner Ehefrau Aida Overhage, geb. Aldana, geboren.

Im September 1962 wurde ich in Monterrey, N.L. Mexiko eingeschult. Nach 6 Jahren "Escuela Primaria", die der deutschen Volksschule entspricht, besuchte ich 3 Jahre die "Secundaria" und anschließend 2 Jahre "Bachilleres", welches mit dem naturwissenschaftlichen Gymnasium gleichzusetzen ist.

Im September 1973 begann ich an der "Autonomen Universität von Nuevo Leon" in Monterrey das Medizinstudium. Nach insgesamt 12 Fachsemestern und 1 Jahr praktischer Tätigkeit in der Abteilung für Allgemeinmedizin im "Dr. Eleuterio Gonzalez"-Krankenhaus legte ich am 20. März 1980 die "Ärztliche Prüfung" ab.

Seit September 1982 bin ich als Stipendiatin der Universität von Nuevo Leon am Lehrstuhl von Herrn Prof. Dr.med. E. Gerlach am Physiologischen Institut der Universität München wissenschaftlich tätig.

